MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

3 OCT 1950

ANNALI DELLA SPERIMENTAZIONE AGRARIA

NUOVA SERIE
VOL. IV - NUM. 5

ROMA
ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO
1950

COMITATO DI REDAZIONE

BARTOLO MAYMONE, *presidente*; ANTONIO BIRAGHI, VINCENZO CARRANTE, LUIGI MARIMPIETRI, ENRICO PANTANELLI, FRANCESCO SCURTI, *membri*

La responsabilità scientifica di tutto quanto è pubblicato negli *Annali della Sperimentazione Agraria* spetta ai rispettivi autori.

PROPRIETÀ LETTERARIA E ARTISTICA RISERVATA

È vietata la riproduzione di testi e illustrazioni dagli *Annali della Sperimentazione Agraria* senza citarne chiaramente la fonte.

MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

ANNALI DELLA SPERIMENTAZIONE AGRARIA

NUOVA SERIE
VOL. IV – NUM. 5

ROMA
ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO
1950

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/annali-della-sperimentazione-agraria_1950_4_5

SOMMARIO

L. Tombesi: **Produzione di sostanza organica e disponibilità idrica del suolo. Nota I.** [Production of organic substance and water availability of the soil. I.] 697

L. Tombesi e M. Tarantola: **La composizione dei semi di alcune specie vegetali in relazione alle disponibilità idriche del suolo. Nota II.** [Chemical composition of seeds of some plants in relation to water availabilities in the soil. II.] 715

L. Tombesi, M. Tarantola, S. Fortini e M. E. Venezian: **Attività catalasica ed energia critica su semi provenienti da piante a diverso regime idrico.** [Catalase activity and critical energy on seeds coming from plants with diverse water regimes] 725

M. E. Venezian: **L'attività ossidasica in relazione con la simbiosi batterica delle Leguminose. Nota I.** [Oxidase activity in relation to the bacterial symbiosis of leguminous plants. I.] 735

S. Fortini e M. E. Venezian: **Studio su alcuni sistemi enzimatici dell'*Arachis hypogaea*.** [On some enzymatic systems of *Arachis hypogaea*] 751

E. Bottini: **Il colloidismo dei terreni nei suoi riflessi con la tecnica delle concimazioni. Ricerche eseguite sui concimi azotati.** [The colloidism of the soil and its relationships to fertilizing. Researches done on nitrogen fertilizers] 767

G. Gattorta: **Ricerche sulla determinazione del manganese assimilabile nel terreno.** [Researches on the determination of available manganese in the soil] 789

I. Cosmo: **Ulteriori indagini sui vini rosati e cerasuoli delle Venezie.** [Further researches on pink and cerise wines of the Veneto region] . . . 803

J. Scurti: **Sulla *Pseudomonas marginata* del gladiolo.** [*Pseudomonas marginata* on gladiolus] 819

J. Scurti: **Sulla istopatologia del mais parassitato dall' *Ustilago maydis*.** [On the morbid histology of maize attacked by *Ustilago maydis*] 827

A. Mezzetti: **Osservazioni sulla morfologia e sulla tassonomia del *Gyroceras celtidis* (Biv.) Mont. et Ces.** [Remarks on the morphology and taxonomy of *Gyroceras celtidis* (Biv.) Mont. and Ces.] 857

A. De Robertis: **La lotta antiacridica. Rilievi sperimentali sull'uso dell'esaclorocicloesano e confronto tecnico-economico di tre diversi metodi di impiego.** [Locust control. Experimental findings on the use of hexachlorocyclohexane and technico-economical comparison of three diverse methods of employment] 869

nel *SUPPLEMENTO*

E. Bottini: **Le moderne conquiste della scienza e della tecnica nella valorizzazione della nostra produzione agrumaria.** [Modern scientific and technical progress in raising the value of our citrus products] . . I

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Luciano Tombesi

PRODUZIONE DI SOSTANZA ORGANICA E DISPONIBILITÀ IDRICA DEL SUOLO

Nota I

Premessa

Le ricerche sul consumo idrico unitario, che qui descrivo furono iniziate, nel 1946, negli impianti appositamente costruiti presso la Stazione chimico-agraria sperimentale di Roma.

Ometto la tecnica seguìta per giungere alla conoscenza dei reperti che più innanzi citerò, perchè essa è stata sufficientemente descritta in precedenti lavori *. Le esperienze, come in altri casi, furono condotte in modo da porre in evidenza le variazioni che il consumo idrico unitario subiva allorchè venivano progressivamente ridotte le disponibilità idriche del suolo.

Le specie vegetali sottoposte all'indagine ed aventi interesse agrario furono: *Arachis hypogaea, Solanum lycopersicum, Vicia faba, Phaseolus vulgaris, Vitis vinifera* e *Brassica campestris* var. *oleifera* **.

Per le prove, sempre ripetute in doppio per avere il necessario controllo, fu usato lo stesso tipo di terreno di medio impasto, reazione subalcalina (pH = 7,8) calcare 5 %, humus 3,0 % ben provvisto di P_2O_5 e di K_2O assimilabili.

Poichè, come è stato sopra accennato, le condizioni sperimentali furono scelte in maniera da render possibile lo studio della produzione

---

* Marimpietri, L., e Tombesi, L. Sulla nutrizione idrica dell'erba medica Note I e II. *Annali della Sperimentazione Agraria*, 1948, n. s., vol. II.

** Il consumo idrico unitario del colza (*Brassica campestris* var. *oleifera*) fu l'oggetto di una nota del 1948. Qui crediamo opportuno, ai fini di una trattazione di carattere generale, riprenderlo in considerazione.

di sostanza secca in funzione di diverse disponibilità idriche, chiamando 100 le massime quantità di acqua fornite alle vasche di vegetazione, i vari regimi idrici adottati risultarono i seguenti:

Solanum lycopersicum . . . . . 50 % ; 100 %
Vitis vinifera . . . . . 51 % ; 100 %
Vicia faba . . . . . 42 % ; 60 % ; 81 % ; 100 %
Arachis hypogaea . . . . . 39 % ; 59 % ; 78 % ; 100 %
Phaseolus vulgaris . . . . . 60 % ; 100 %
Brassica campestris var. *oleifera* 32 % ; 60 % ; 100 % ; 200 %

Per la *Br. campestris* var. *oleifera* fu adottato il regime idrico del 200 % affinchè le reazioni di natura biometrica ed istologica che appresso illustreremo, si rendessero più evidenti.

Parte sperimentale

Nelle tabelle che riporto sono raccolti i dati riguardanti la produzione di sostanza organica secca a 100°–105° C. formata nell'intero ciclo biologico dalle varie colture, la produzione di semi (riferita sempre al secco), il consumo idrico totale e il consumo idrico unitario.

Tabella I

Piante	*Solanum lycopersicum*				*Phaseolus vulgaris*				*Vitis vinifera* *			
Regime idrico:	50 %		100 %		60 %		100 %		51 %		100 %	
Pesi riferiti a superficie	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha
Totale parte aerea (secca a 100°–105°) . .	616,24	76	1557,46	192	328	40	463	57	30,6	—	75,6	—
Semi o frutti (secchi a 100°–105°)	111,24	14	228,78	36	42,3	5	88,2	11	—	—	—	—
Rapporto $\frac{\text{semi}}{\text{steli, foglie, ecc.}} \cdot 100$	—		—		12,89		19,4		—		—	

* Non abbiamo potuto riportare ad ha i dati relativi a tale coltura poichè l'investimento unitario varia in pratica con troppa frequenza. Per le altre colture l'investimento è quello medio usato nel Lazio.

Tabella II

Pianta	*Vicia faba*							
Regime idrico:	42 %		60 %		81 %		100 %	
Pesi riferiti a superficie	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha
Totale parte aerea (secca a 100°–105°)	158	65	227	94	447	186	440	183
Semi (secc. a 100°–105°)	59,15	24	86	36	132,4	55	119,4	50
Rapporto $\frac{\text{semi}}{\text{steli, foglie, ecc.}} \cdot 100$ . . .	59,8		60,9		42,0		37,2	

Tabella III

Pianta	*Arachis hypogaea*							
Regime idrico:	39 %		59 %		78 %		100 %	
Pesi riferiti a superficie	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha
Totale parte aerea (secca a 100°–105°)	122	51	229	95	273	113	299	124
Semi (secchi a 100°–105°)	36,00	15	55,00	23	84,00	35	97,00	40
Rapporto $\frac{\text{semi}}{\text{steli, foglie, ecc.}} \cdot 100$ . . .	41,8		31,6		49,7		48,0	

Tabella IV

Pianta	*Brassica campestris* var. *cleifera*							
Regime idrico	32 %		60 %		100 %		200 %	
	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha	gr. per vasca	Ql. per Ha
Totale parte aerea (secca a 100°–105°)	348,26	42,84	844,98	103,93	1476,94	181,66	1138,35	140 —
Semi (secc. a 100°–105°)	11,06	1,36	87,93	10,82	103,38	12,71	71,95	88,50
Steli, foglie e silique (secc. a 100°–105°)	337,20	41,47	757,05	93,11	1373,56	168,94	1066,40	131,17
Rapporto $\frac{\text{semi}}{\text{steli, foglie ecc.}} \cdot 100$	3,28		11,61		7,53		6,74	

Tabella V

Piante	*Solanum lycopersicum*				*Phaseolus vulgaris*				*Vitis vinifera*			
Regime idrico	50 %		100 %		60 %		100 %		51 %		100 %	
	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha
Consumo idrico totale	462	5680	858	10553	196	2410	326	4009	12,10	—	23,70	—
Consumo idrico unitario: totale parte aerea	749		551		598		704		313		396	
Consumo idrico unitario: semi o frutti .	4152*		2971*		4633		3696		—		—	

Tabella VI

Pianta	*Vicia faba*							
Regime idrico	42 %		60 %		81 %		100 %	
	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha
Consumo idrico totale .	62,5	2600	89	3702	120,5	5013	148,5	6178
Consumo idrico unitario: totale parte aerea	395		392		270		337	
Consumo idrico unitario: semi	1057		1034		910		1244	

Tabella VII

Pianta	*Arachis hypogaea*							
Regime idrico	39 %		59 %		78 %		100 %	
	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha
Consumo idrico totale	92	3827	142	5907	183	7613	240	9984
Consumo idrico unitario: totale parte aerea .	754		620		670		803	
Consumo idrico unitario: semi	2777		2509		2178		2474	

* Il consumo idrico unitario è stato calcolato sul frutto secco a 100°–105°. Quello sul frutto fresco per il regime idrico del 50 % è di 249 litri e per il regime idrico del 100 % è di 178 litri.

Tabella VIII

Pianta	*Brassica campestris* var. *oleifera*							
Regime idrico	32 %		60 %		100 %		200 %	
	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha	litri per vasca	m³ per Ha
Consumo idrico totale in litri	108,9	1339,47	207,74	2554,71	335,35	4124,19	619,52	7620
Consumo idrico unitario totale parte aerea	314		246		227		544	
Consumo idrico unitario semi	9846		2362		3343		8610	

Tabella IX

Pianta	*Solanum lycopersicum*			
Rilievi su:	Regime idrico ridotto		Regime idrico normale	
	Epidermide inferiore	Epidermide superiore	Epidermide inferiore	Epidermide superiore
Numero stomi	11,70	2,8	11,00	2,65
rapporto prec.	100	100	94	94,6
Numero peli	38	—	36	—
rapporto prec.	100	—	94,4	—

Tabella X

Pianta	*Brassica campestris* var. *oleifera*			
Regime idrico	32 %	60 %	100 %	200 %
Contenuto medio in clorofilla mmgr. per dm² di foglia	16,68	—	—	12,00
Numero stomi a dm² epid. superiore	3.475.500	—	—	3.198.500
Numero stomi a dm² epid. inferiore	2.675.000	—	—	2.281.000
Lunghezza silique in cm.	5,1	9,0	11,3	11,3
Peso in gr. di 200 semi	0,6659	0,7792	0,8642	0,8444
Volume in cm. 3 di 200 semi	0,85	0,85	0,95	1,15
Altezza piante il 3 aprile – cm.	60,3	104,5	120,2	126,7
Lunghezza lamina – cm.	8,2	—	—	18,1
Larghezza lamina – cm.	5,2	—	—	9,5
Lunghezza intermedi cm.	24	—	—	38
Inizio fioritura	7 marzo	7 marzo	10 marzo	13 marzo

Tabella XI

Regime idrico	Steli di colza			Fusti di pomodoro		Fusti di vite	
	32 %	60 %	200 %	50 %	100 %	50 %	100 %
Umidità	16,26 %	17,80 %	15,37 %	—	—	—	—
Grassi grezzi	1,49 %	0,87 %	0,90 %	—	—	—	—
Cellulosa (met. Bellucci)	30,00 %	32,31 %	36,75 %	26,15 %	29,03 %	21,94 %	22,82 %
Lignina (met. Nollehoelder)	22,05 %	30,05 %	32,92 %	15,04 %	18,02 %	36,54 %	40,88 %

Regime idrico	Steli di fava				Steli di arachide				Steli di fagiuolo			
	25 %	50 %	75 %	100 %	25 %	50 %	75 %	100 %	25 %	50 %	75 %	100 %
Umidità	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Grassi grezzi	0,98%	0,79%	0,80%	0,64%	—	—	—	—	—	—	—	—
Cellulosa (met. Bellucci)	25,96%	28 27%	29,16%	28,86%	30,1%	27,1%	30,70%	30,70%	30,00%	33,12%	30,00%	31,10%
Lignina (met. Nollehoelder)	18,00%	20,56%	21,42%	20,00%	25,04%	24,03%	22,64%	28,32%	21,50%	21,44%	20,61%	21,34%

Esaminando i risultati riportati posso fare le seguenti deduzioni:

1) Come è chiaramente illustrato nei grafici I–VI, la produzione totale di sostanza organica secca a 100°–105° C. ottenuta in funzione dei vari regimi idrici non sembra seguire la legge fisiologico–matematica del Mitcherlich. A questo riguardo furono studiate in collaborazione con l'Istituto nazionale per le applicazioni del calcolo del Consiglio nazionale delle Ricerche alcune funzioni capaci di interpolare le curve di produzione.

Delle varie funzioni per brevità ne riporteremo solo alcune impostate anni or sono. Esse furono applicate allo studio della produzione di sostanza organica della *Medicago sativa* * ottenuta sotto i seguenti regimi idrici: 30 %, 50 %, 60 %; 80 %, 100 %.

Pertanto usando le:

$$1)\quad y = \frac{e^{\frac{k}{x}} \left(\frac{K_1}{x}\right)^2}{\left(e^{\frac{k}{x}} - 1\right)^2} \qquad 2)\quad y = \frac{1}{1 + be^{-kx}} \qquad 3)\quad y = a\, e^{-b\,(x-c)^3}$$

si ottengono i valori Y (x_i) delle tabelle XII–XIV, appresso riportate.

È da tener presente il fatto che le funzioni di cui sopra non provengono da presupposti teorici, e di conseguenza hanno solo valore interpolatorio. Il calcolo condotto per giungere alla conoscenza dei parametri è stato il seguente:

a) Calcolo interpolatorio della funzione (1)

Si vogliono determinare i parametri k, k_1 in modo che la funzione

$$(1)\qquad y = A\, \frac{e^{\frac{k}{x}} \left(\frac{K_1}{x}\right)^2}{\left(e^{\frac{k}{x}} - 1\right)^2}$$

accosti i punti

$$\begin{aligned} x_1 &= 49{,}4 \;;\; y_1 = 0{,}15\ A \\ x_2 &= 99 \;;\; y_2 = 0{,}33\ A \\ x_3 &= 119 \;;\; y_3 = 0{,}46\ A \\ x_4 &= 158 \;;\; y_4 = 0{,}84\ A \\ x_5 &= 198 \;;\; y_5 = A \end{aligned}$$

in cui x_1 x_2 x_3 x_4 x_5 sono le quantità di acqua somministrata in litri ed A è la massima produzione raggiungibile in gr. di sostanza secca (A = 297 gr).

$$\frac{y}{A} = Y \quad , \quad \frac{K_1^2}{4} = c \quad , \quad \frac{K}{2} = a$$

---

* Marimpietri, L., e Tombesi, L. *L. c.*

la (1) si trasforma in

(1 *a*) $$Y = \frac{c}{x^2 \sinh^2 \frac{a}{x}}$$

e, ponendo ancora

$$\frac{1}{x^2 \sinh^2 \frac{a}{x}} = f(x\ ;\ a)$$

cerchiamo di determinare c in modo che, per ogni a fissato, la somma

$$\sigma^2(a\ ,\ c) = \sum_{i=1}^{5} [f(x_i\ ;\ a) - Y_i]^2$$

risulti minima. Ciò avviene per

$$c = \bar{c} = \frac{\sum_{i=1}^{5} Y_i f(x_i\ ;\ a)}{\sum_{i=1}^{5} [f(x_i\ ;\ a)]^2}$$

e si ha:

$$\sigma^2(a, \bar{c}) = \sum_{i=1}^{5} Y_i^2 - \frac{\left[\sum_{i=1}^{5} Y_i f(x_i\ ;\ a)\right]^2}{\sum_{i=1}^{5} [f(x_i\ ;\ a)]^2}$$

Esaminando ora per quali valori di a la somma $\sigma^2(a, \bar{c})$ risulti minima, si trova che la funzione:

$$\Phi(a) = \frac{\left[\sum_{i=1}^{5} y_i f(x_i\ ;\ a)\right]^2}{\sum_{i=1}^{5} [f(x_i\ ;\ a)]^2}$$

ha un massimo per $a = \bar{a} = 232$ circa, avendosi ivi:

$$\Phi(\bar{a}) = 2{,}02578$$

e:

$$\bar{c} = 84501{,}045$$

Adotteremo dunque la formula:

$$Y = \frac{y}{A} = \frac{84501}{x^2 \sinh \frac{232}{x}}$$

oppure la (1) con $k = 464$, $K_1 = 581{,}381$.

Nella tabella seguente sono riportati i valori $Y(x_i)$ calcolati mediante la (1a) allo scopo di fare un confronto con i dati $\frac{y_i}{A}$:

Tabella XII

i	x_i	$Y(x_i)$	$\frac{y_i}{A}$
1	49,4	0,011154	0,15
2	99	0,3238	0,33
3	119	0,5038	0,46
4	158	0,8008	0,84
5	198	1,0128	1

Lo scarto quadratico medio $\sqrt{\frac{\sigma^2(\bar{a}, \bar{c})}{5}}$ risulta 0,06756

b) Calcolo interpolatorio della funzione (2)
Considerando, in luogo della (1), la funzione

(2) $$y = \frac{1}{1 + b\, e^{-kx}}$$

la ricerca dei valori di k e c che rendono minima l'espressione:

$$\Phi(k, x) = \sum_{i=1}^{4} (c - k\, x_i - z_i)^2$$

dove $c = \log b$, $z_i = \lg\left(\frac{1}{y_i} - 1\right)$, conduce al sistema

$$\begin{cases} 4\, c - k \sum_{i=1}^{4} x_i = \sum_{i=1}^{4} z_i \\ c \sum_{i=1}^{4} x_i - k \sum_{i=1}^{4} x_i^2 = \sum_{i=1}^{4} x_i\, z_i \end{cases}$$

la cui risoluzione fornisce:

$$b = 32{,}908 \qquad k = 0{,}030630 \,.$$

Nei punti x_i la funzione

$$y(x) = \frac{1}{1 + 32{,}908\, e^{-0{,}030630\, x}}$$

acquista i valori qui riportati, messi a confronto con quelli assegnati:

Tabella XIII

i	$y(x_i)$	$f(x_i)$
1	0,121	0,15
2	0,387	0,33
3	0,538	0,46
4	0,793	0,84
5	0,929	1

c) Calcolo interpolatorio della funzione (3)

Si è voluto ancora esaminare i risultati che si ottengono assumendo quale funzione interpolatrice la seguente:

(3) $$y = a\, e^{-b\,(x-c)^2}$$

con le a, b, c, tali da rendere minima l'espressione:

$$\sigma^2(A, b, c) = \sum_{i=1}^{5} [z_i - A + b\,(x_i - c)^2]^2$$

dove: $\lg y_i = z_i$, $\lg a = A$

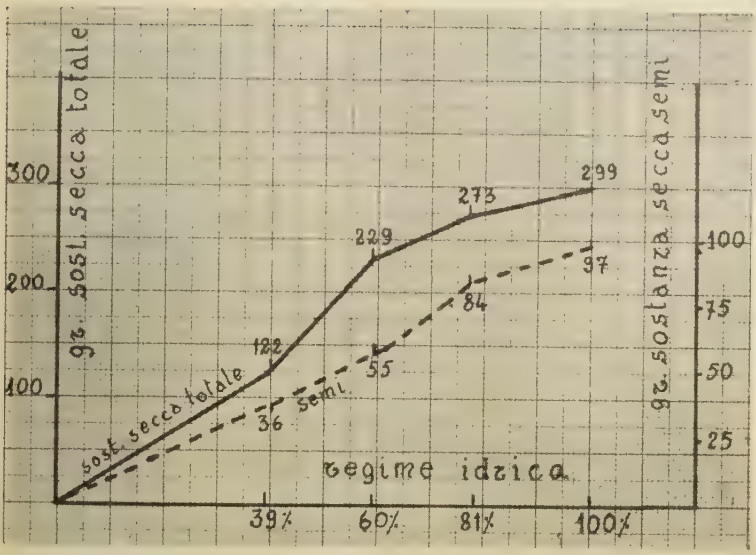
Per ogni fissato c, A e b debbono soddisfare al sistema:

$$\begin{cases} 5A - b \sum_{i=1}^{5} (x_i - c)^2 = \sum_{i=1}^{5} z_i \\ A \sum_{i=1}^{5} (x_i - c)^2 - b \sum_{i=1}^{5} (x_i - c)^4 = \sum_{i=1}^{5} z_i\,(x_i - c)^2 \end{cases}$$

e si è constatata l'opportunità di assumere $c = 240$, onde $a = 1{,}11359$ $b = 0{,}0456651$. La funzione:

$$y(x) = 1{,}11359\, e^{-0{,}045665\,(x-240)^2}$$

Grafico I



Arachis hypogaea.

acquista nei punti x_i i valori, messi a confronto con quelli assegnati:

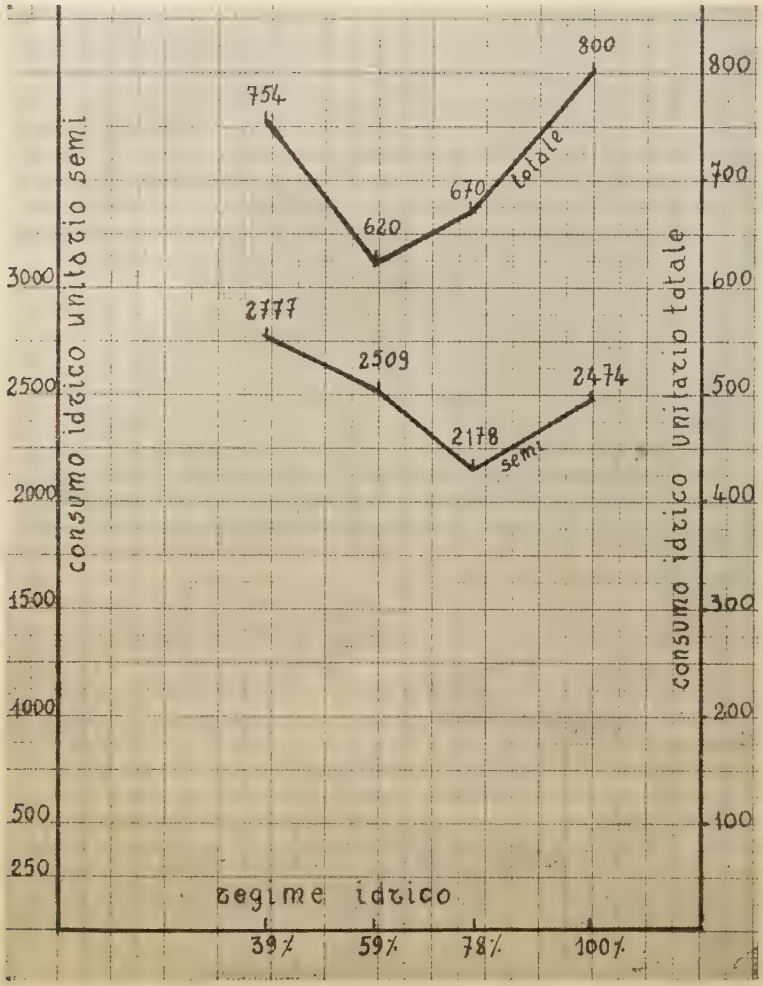
Tabella XIV

i	y (x_i)	f (x_i)
1	0,142	0,15
2	0,361	0,33
3	0,486	0,46
4	0,761	0,84
5	1,008	1

2) Il rapporto semi–steli, foglie, ecc. come risulta dalle tabelle I, II, III, IV non solo varia a seconda della specie ma nell'ambito di una stessa specie essa varia in funzione del regime idrico.

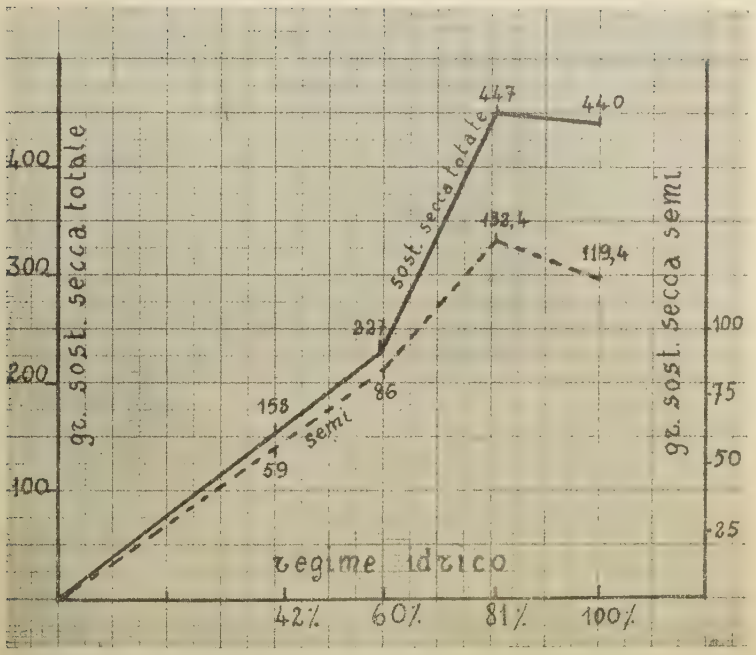
I massimi di tali rapporti che ci danno un indice delle capacità che ha un soggetto a produrre rispetto al soma, si riscontrano per le dotazioni idriche che vanno dal 60 % all'80 %.

GRAFICO II



Arachis hypogaea.

GRAFICO III



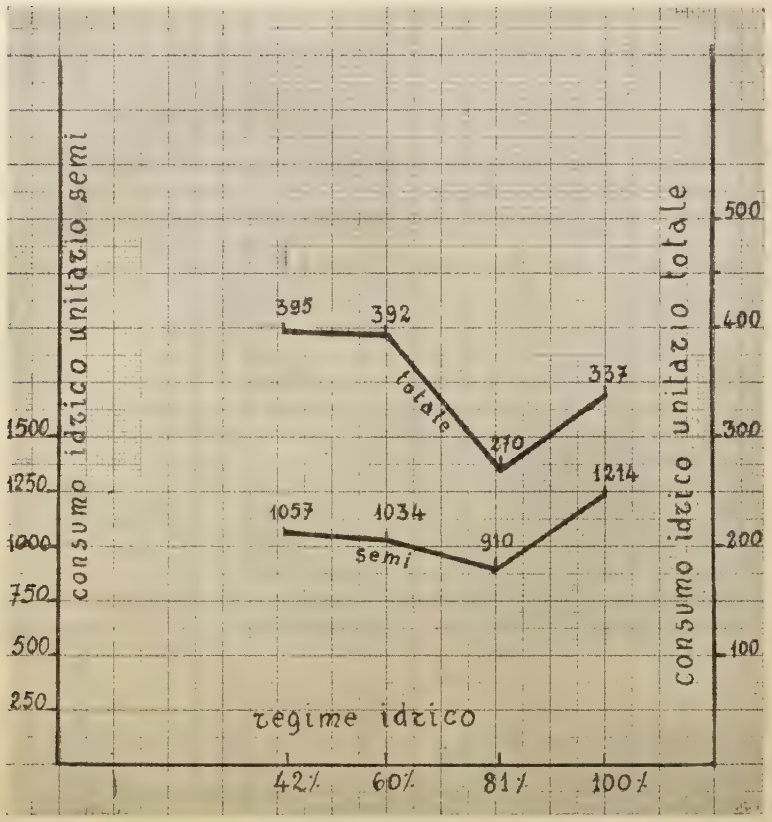
Vicia faba.

3) I consumi idrici unitari relazionati al consumo acqueo percentuale, come è facile vedere dai grafici II, IV, VI, presentano un andamento che ricorda la curva catenaria.

I minimi di tali curve rappresentano i punti dove la specie considerata utilizza più razionalmente il fattore acqua per formare un kg. di sostanza organica secca sia essa seme o parte aerea; è da tener presente che per ciascuna specie si debbono considerare due minimi: uno riferentesi al seme ed uno al soma; non sempre essi coincidono. I consumi idrici unitari ottimali analogamente a ciò che accade per i rapporti di cui al paragrafo 2) si riscontrano per quei regimi idrici che vanno dal 60 % all'80 %.

Le variazioni biometriche che si verificano nei soggetti allorchè le disponibilità idriche del suolo vengono a ridursi sono state elencate in altre memorie; qui le ripetiamo onde rendere unitario il quadro delle ricerche da anni intraprese.

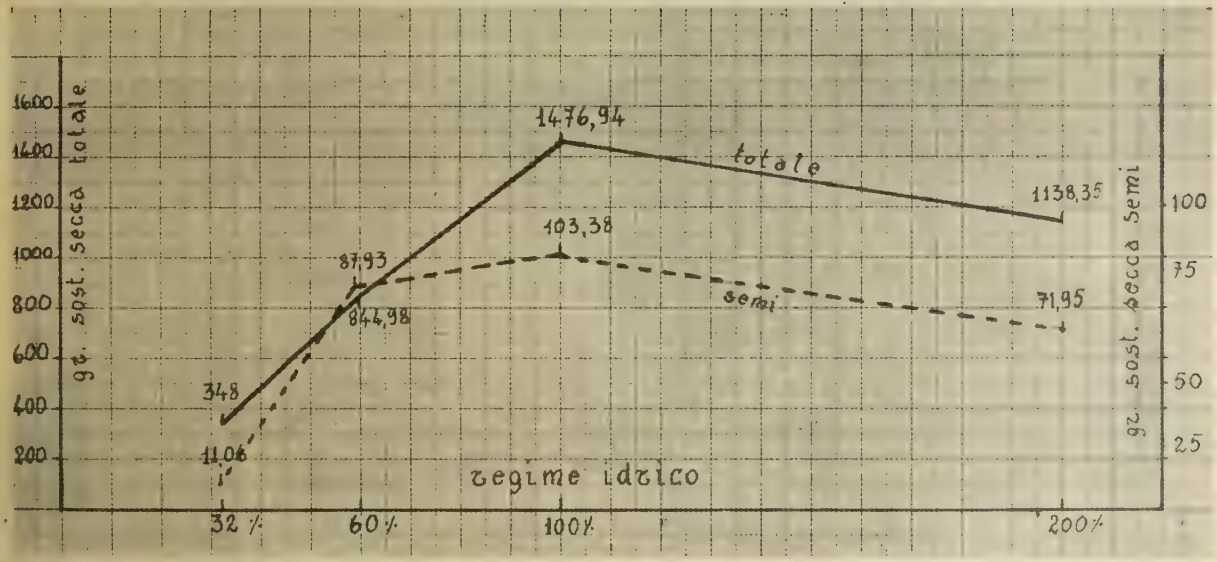
GRAFICO IV



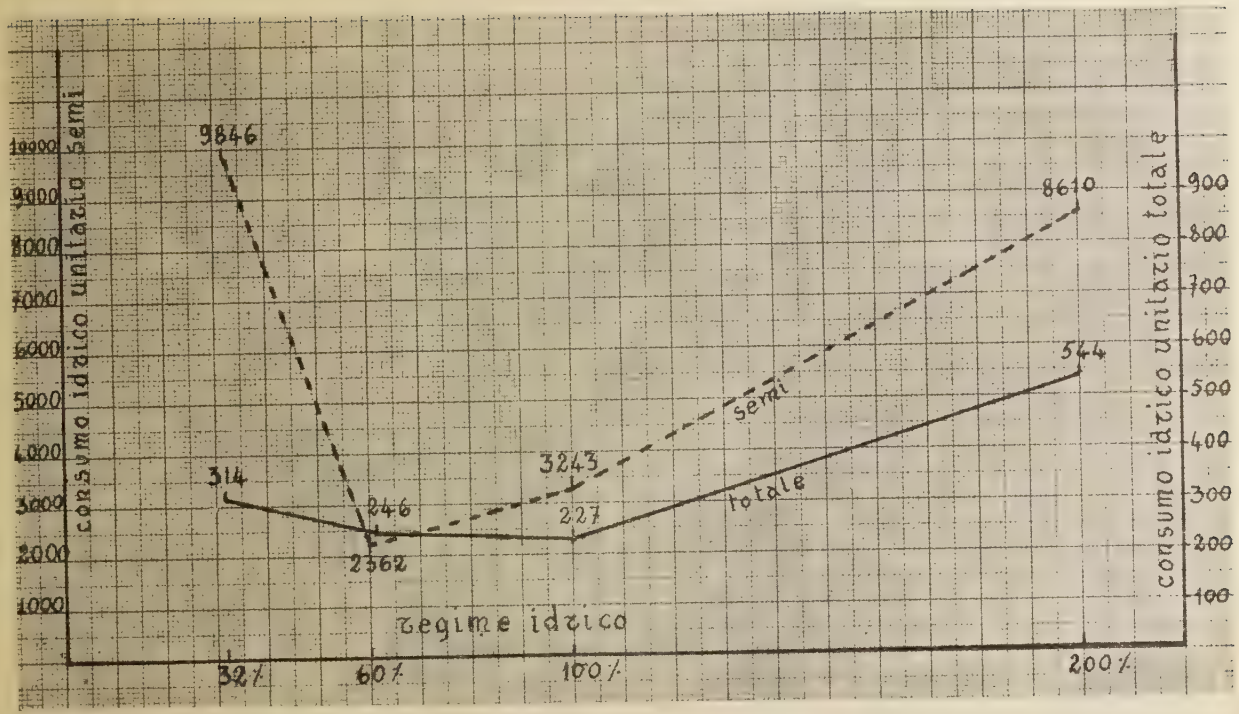
Vicia faba.

Sul *Solanum lycopersicum* furono eseguite misure inerenti alla frequenza stomatica e al numero dei peli; sulla *Brassica campestris* var. *oleifera* altre misure biometriche concernenti anche altri organi, come risulta dalle relative tabelle IX, X.

Allo scopo di indagare i processi di lignificazione della membrana cellulare in funzione dei regimi idrici, furono intraprese sistematiche analisi sui tessuti legnosi; i risultati riportati nella tabella XI secondo quanto abbiamo altre volte riferito, lasciano vedere come la lignina e la cellulosa aumentino in genere con l'aumentare delle dosi di acqua somministrate alla coltura. Questo



Brassica campestris var. *oleifera*.



Brassica campestris var. *oleifera*.

fenomeno singolare probabilmente trova spiegazione nel fatto che, come noi abbiamo dimostrato, a regime idrico ridotto vengono esaltate le funzioni fondamentali dei vegetali: la fotosintesi e la respirazione.

Ad un aumento sia dell'una che dell'altra di queste due funzioni e ad una diminuzione dei composti ad alta condensazione corrisponderebbe di conseguenza una maggiore pressione osmotica dei tessuti, maggiore pressione osmotica che permetterebbe alla pianta non solo di affrontare le eventuali concentrazioni elevate della soluzione circolante dal suolo, ma anche di far fronte con i noti meccanismi all'eventuale chiusura degli stomi, che in genere si verifica in tali occasioni.

CONCLUSIONI

Si è voluto indagare per *Solanum lycopersicum*, *Arachis hypogaea*, *Vitis vinifera*, *Phaseolus vulgaris* e *Brassica oleracea* var. *oleifera*, l'andamento del consumo idrico unitario e la produzione di sostanza organica in funzione di varie disponibilità idriche del suolo.

Quest'ultimo processo è stato studiato dal punto di vista matematico usando le seguenti equazioni.

$$1)\quad y = \frac{e^{\frac{k}{x}}\left(\frac{K1}{x}\right)^2}{\left(e^{\frac{k}{x}} - 1\right)^2} \qquad 2)\quad y = \frac{1}{1 + be^{-kx}} \qquad 3)\quad y = a\,e^{-b(x-c)^2}$$

Il calcolo interpolatorio per la 2) e la 3) è risultato soddisfacente e ci ha permesso di rilevare come la legge fisiologico–matematica del Mitcherlich non si possa in tali casi applicare.

Come risulta dai valori riportati nel contesto i rapporti semi, steli, foglie, ecc. pur variando ampiamente nell'ambito della pianta considerata presentano i massimi per le dotazioni idriche che vanno dal 60 % all'80 %.

I consumi idrici unitari relazionati al consumo acqueo percentuale in tutti i casi offrono dei minimi che indicano l'*optimum* di utilizzazione del fattore acqua. Anche tale *optimum* cade nei regimi del 60 e dell'80 %.

Come è stato rilevato in precedenti lavori, diminuendo le disponibilità idriche i tessuti verdi presentano un maggior contenuto in clorofilla e un minor contenuto in cellulosa e lignina; in queste stesse condizioni sperimentali nelle epidermidi fogliari la frequenza stomatica tende ad aumentare.

SUMMARY

PRODUCTION OF ORGANIC SUBSTANCE AND WATER AVAILABILITY OF THE SOIL. I.

by Luciano Tombesi

The object of this paper is to investigate for *Solanum lycopersicum*, *Arachis hypogaea*, *Vitis vinifera*, *Phaseolus vulgaris*, and *Brassica oleracea* var. *oleifera*, the rate of water consumption per unit and the production of organic substance as a function of various water availabilities of the soil.

This last process has been studied from the mathematical point of view using the following equations: —

$$(1)\quad y = \frac{e^{\frac{k}{x}\left(\frac{K_1}{x}\right)^2}}{\left(e^{\frac{k}{x}} = 1\right)^2} \qquad (2)\quad y = \frac{1}{1 + be^{-kx}} \qquad (3)\quad y = a\,e^{-b(x-c)^2}$$

The interpolatory calculation for (2) and (3) gives a satisfactory result and has permitted the authors to demonstrate how the physiologico-mathematical law of Mitcherlich cannot apply in such cases.

The values reported in the context show that the seeds, stems, leaves, etc., studied there, although largely varying in the individual plant considered, present the maximum for the water supplies ranging from 60 % to 80 %.

The water consumptions per unit related to the percentage water consumption in all cases offer minimums which indicate the *optimum* of utilization of the water factor. Also such *optimum* falls in the supplies of 60 and of 80 %.

As has been set forth in preceding works, on diminishing the water availability the green tissues present a major content in chlorophyl and a minor content in cellulose and lignin; under these same experimental conditions in the leaf epiderms the frequency of stomata tends increase. conditions in the leaf epiderms the frequency of stomata tends to increase.

Ricevuto il 7 marzo 1950.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Luciano Tombesi e Matilde Tarantola

LA COMPOSIZIONE DEI SEMI DI ALCUNE SPECIE VEGETALI IN RELAZIONE ALLE DISPONIBILITÀ IDRICHE DEL SUOLO

Nota II

Premessa

Nella Nota I * si è voluto porre in evidenza l'andamento della produzione di sostanza organica di alcune specie ed il relativo consumo idrico unitario; qui, invece, ci siamo proposti di indagare come le disponibilità idriche del suolo possano influire sulla composizione chimica dei semi e di conseguenza sul loro valore nutritivo.

Metodi usati

Per la determinazione della cellulosa è stato adottato il metodo Kurscheer e Hanak modificato dal Bellucci**; per l'azoto si è seguìto il metodo Kieldahl. Per risalire dall'azoto al contenuto in proteine grezze, si sono usati fattori diversi a seconda della specie della quale proveniva il materiale; ad es. per i semi di colza abbiamo ammesso il fattore 6 in accordo con le vedute di Ritthausen***.

Parte sperimentale

Nelle tabelle, che seguono, abbiamo raccolto i vari reperti analitici dei semi provenienti da piante allevate con diversi regimi idrici. Si è creduto opportuno aggiungere i valori relativi ai semi del lino da olio

* *Annali della Sperimentazione Agraria*, Roma, 1950, n. s., vol. IV.
** Bellucci, L. La determinazione della cellulosa nella farina di frumento e nei sottoprodotti. *Annali di Chimica applicata*, 1932, vol. XXII.
*** Ritthausen. *Landw. Versuchsstat.*, 1896.

Tabella I

Semi di fagiolo

Regimi idrici	30 %	60 %	80 %	100 %
Umidità %	14,95	15,00	15,00	14,83
Protidi grezzi %	25,28	26,62	26,46	25,4
Grassi grezzi %	1,41	1,34	1,27	1,36
Cellulosa [met. Bellucci] .	7,51	7,55	6,00	6,00
Ceneri %	3,01	3,05	3,00	3,1
Estrattivi inazotati	47,84	46,44	48,27	49,31

già resi noti * ed eseguiti, come quelli del colza, da uno degli autori onde rendere il presente lavoro più organico.

Come è facile rilevare anche dagli annessi grafici, sia i protidi grezzi che i grassi grezzi aumentano considerevolmente con l'aumentare delle disponibilità idriche del suolo, mentre la cellulosa e gli estrattivi inazotati tendono ad aumentare con il diminuire del regime idrico contrariamente a quanto accade per i tessuti facenti parte del sistema xilofloematico e dell'endoderma dei fusti.

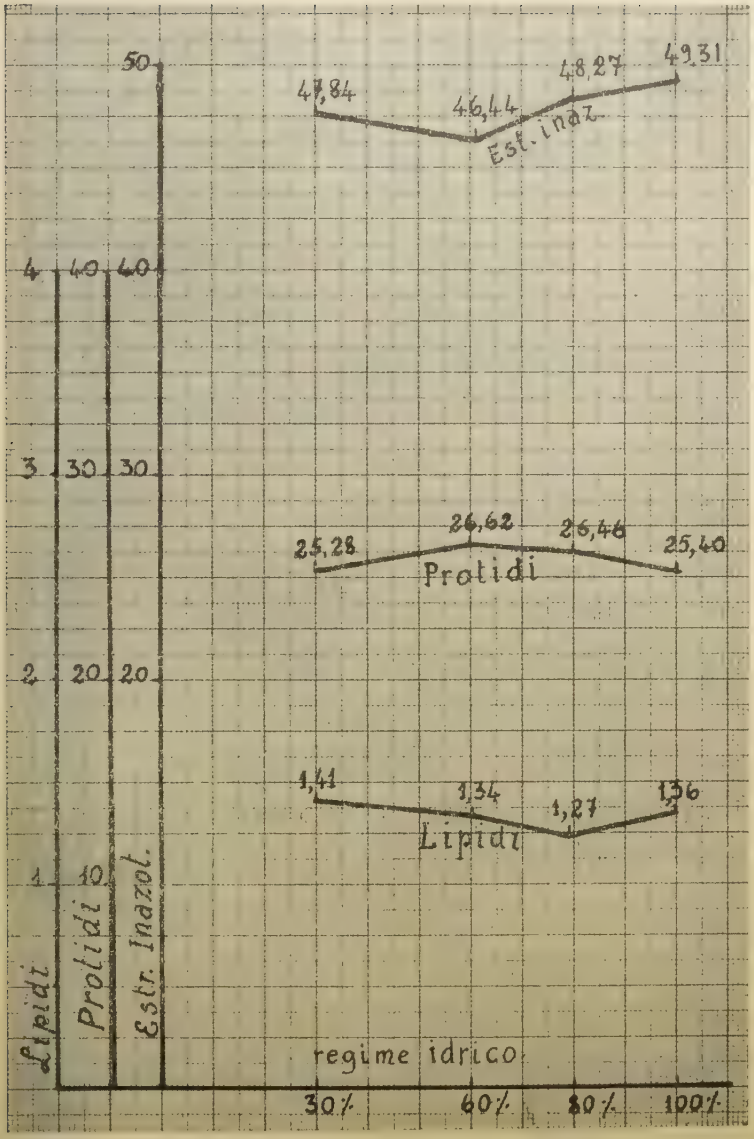
Tabella II

Semi di lino

Regimi idrici	55 %	100 %	100 % carenzato ad inizio della fioritura
Umidità %	8,30	9,86	9,06
Protidi grezzi %	26,51	26,25	24,50
Lipidi grezzi %	34,40	35,54	33,60
Estrattivi inazotati % . . .	20,29	18,11	21,54
Cellulosa [met. Bellucci] %	6,50	6,14	7,20
Ceneri %	4,00	4,10	4,10

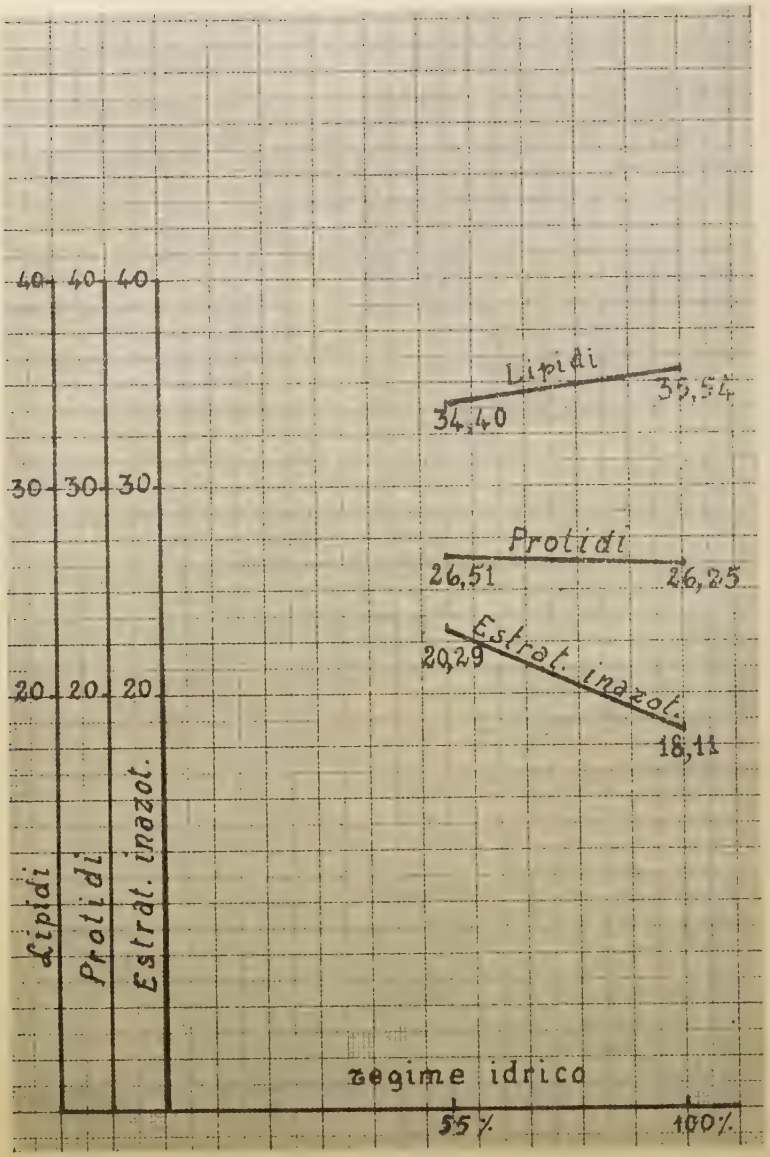
* Donà Dalle Rose, A., e Tombesi, L. Ricerche sulla nutrizione idrica del lino da olio. Nota I. *Annali della Stazione chimico-agraria sperimentale di Roma*, 1950, serie III, pubbl. n. 19.

GRAFICO I



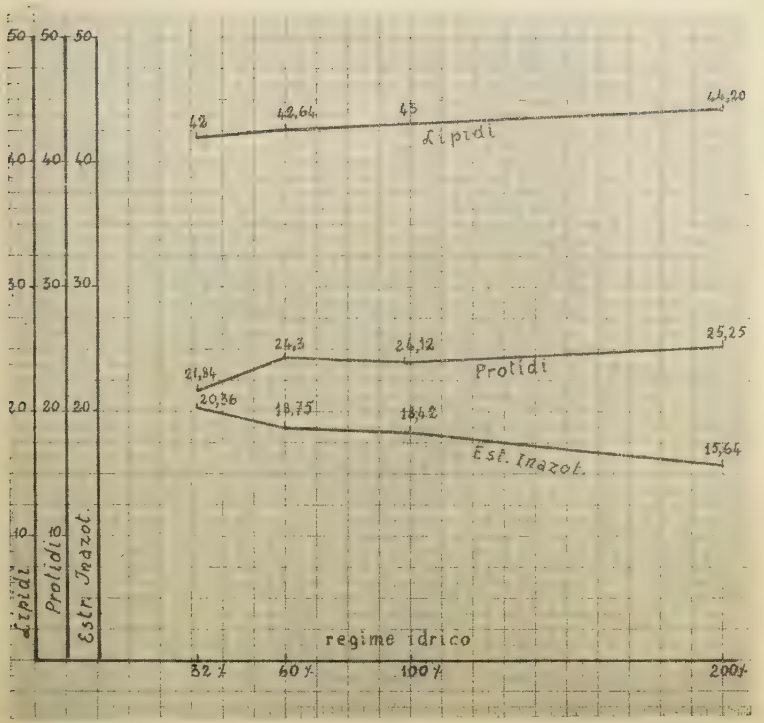
Phaseolus vulgaris.

GRAFICO II



Linum usitatissimum.

GRAFICO III



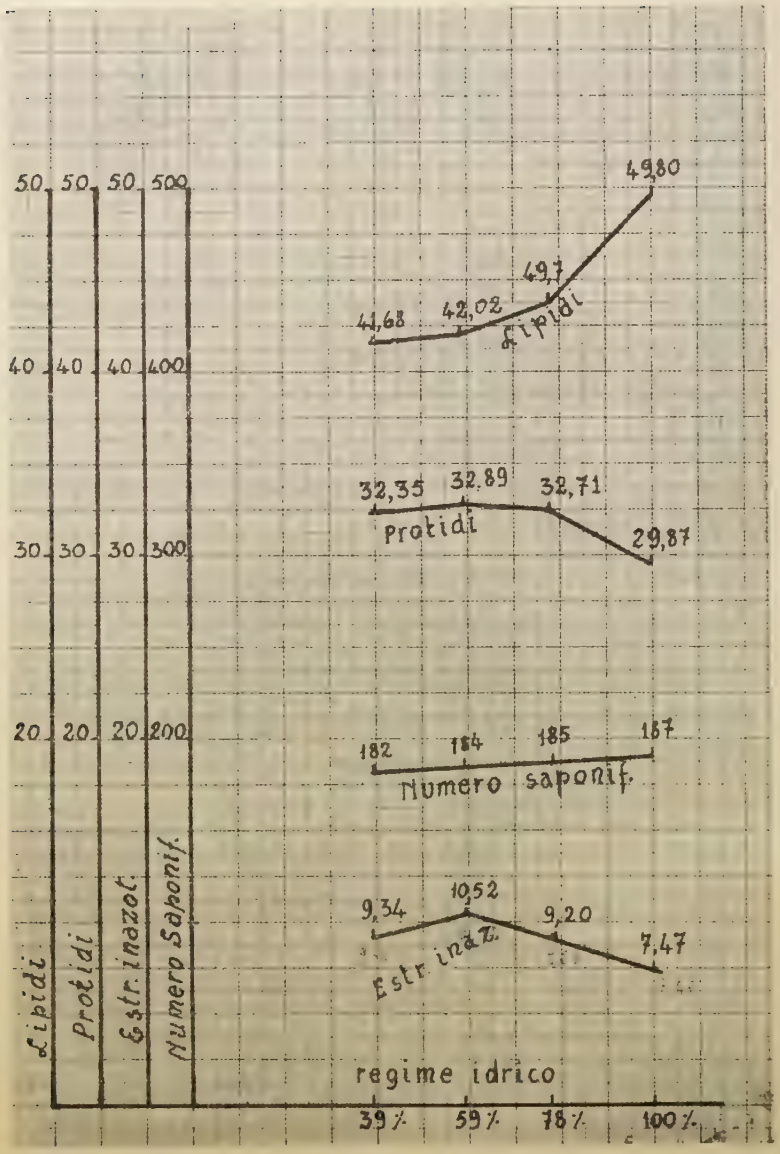
Brassica campestris var. *oleifera*.

Per le ceneri, malgrado si riscontri una tendenza alla diminuzione in alcune specie con il decrescere delle dosi d'acqua, in generale nulla si può dire di preciso.

Per quanto concerne il seme dell'*Arachis hypogaea* è stato determinato il numero di saponificazione.

Dai dati riportati nella tabella IV emerge che, analogamente a ciò che accade per i grassi grezzi, esso diminuisce sensibilmente con il diminuire delle dosi d'acqua somministrate alla coltura. Poichè tale numero rappresenta, come è noto, i mmgr. di KOH necessari per saponificare un grammo di sostanza grassa, è notevole il fatto che, a parità di peso esso aumenti con l'aumentare del regime idrico, in quanto ciò significa che parallelamente diminuisce il contenuto, in sostanze insaponificabili.

GRAFICO IV



Arachis hypogaea.

Tabella III

Semi di colza

Regimi idrici	32 %	60 %	100 %	200 %
Umidità %	7,02	6,66	6,86	7,16
Ceneri %	5,28	4,15	4,10	4,15
Azoto	3,64	4,05	4,02	4,21
Proteine grezze %	21,84	24,30	24,12	25,25
Grassi grezzi %	42,00	42,64	43,00	44,20
Cellulosa [met. Bellucci]	3,5	3,5	3,5	3,6
Estrattivi inazotati	20,36	18,75	18,42	15,64

Tabella IV

Semi di arachide

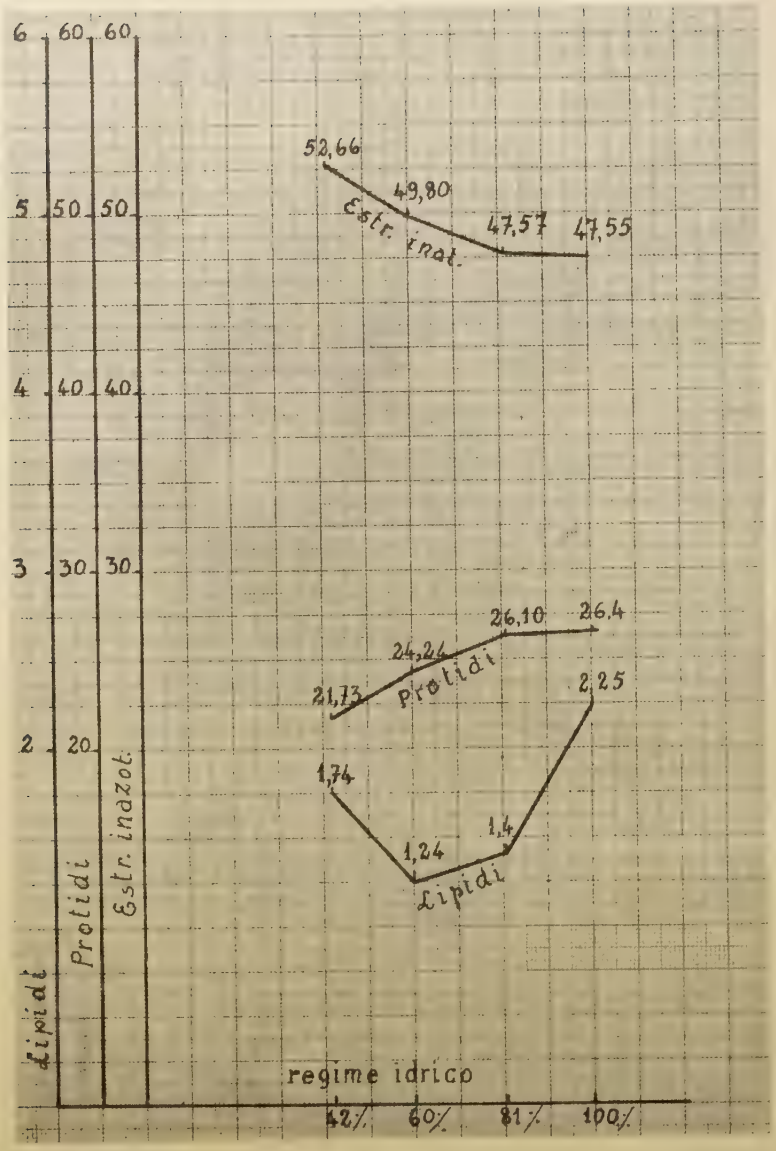
Regimi idrici	39 %	59 %	78 %	100 %
Umidità %	6,03	5,74	5,28	5,59
Numero Saponific.	182,00	184,00	185,00	187,00
Proteine grezze %	32,35	32,89	32,71	29,87
Grassi grezzi %	41,68	42,02	43,7	49,80
Cellulosa [met. Bellucci]	7,50	6,00	6,16	4,20
Ceneri %	3,1	2,83	2,95	3,07
Estrattivi inazotati %	9,34	10,52	9,20	7,47

Tabella V

Semi di fava

Regimi idrici	42 %	60 %	81 %	100 %
Umidità %	9,5	10,30	9,8	9,8
Azoto	3,62	4,04	4,3	4,4
Protidi grezzi %	21,73	24,24	26,1	26,4
Grassi grezzi %	1,74	1,24	1,4	2,25
Cellulosa [met. Bellucci]	10,97	10,62	10,13	10,00
Ceneri %	3,4	3,8	5,00	4,00
Estrattivi inazotati	52,66	49,80	47,57	47,55

GRAFICO V



Vicia faba.

I fatti sopra citati riguardanti la composizione dei semi delle varie specie sottoposte allo studio lasciano intravedere come profonde siano le differenze di comportamento del soma e del seme nei riguardi delle diverse disponibilità idriche del suolo.

Così mentre in precedenti lavori * dimostrammo che i grassi grezzi, i protidi grezzi e i protidi puri dei fusti allorchè i regimi idrici vengono a ridursi, aumentano considerevolmente, per i semi si ha esattamente il contrario.

CONCLUSIONI

Abbiamo voluto indagare come le diverse disponibilità idriche del suolo influiscono sulla composizione chimica dei semi delle seguenti specie:

Phaseolus vulgaris, Brassica campestris var. *oleifera, Arachis hypogaea, Linum usitatissimum* e *Vicia faba.*

Dai dati analitici riportati nel contesto è emerso quanto segue:

1) I grassi grezzi e i protidi grezzi nei casi investigati dagli autori aumentano considerevolmente con l'aumentare delle dosi d'acqua poste a disposizione della pianta.

2) Il contenuto in cellulosa e in estrattivi inazotati tendono ad aumentare nei semi ottenuti da piante allevate in carenza idrica.

3) Sull'olio di *Arachis hypogaea* è stato determinato il numero di saponificazione e si è dimostrato come esso aumenti con l'aumentare del regime idrico.

È stato posto in evidenza il diverso comportamento del soma e del seme delle diverse specie nei riguardi delle varie disponibilità idriche del suolo. Allorchè quest'ultime diminuiscono, mentre nei tessuti che costituiscono il fusto, i grassi grezzi, (cere cuticolari) e i protidi grezzi aumentano, nei tessuti costituenti i semi, questi diminuiscono.

---

* Marimpietri, L., e Tombesi, L. Sulla nutrizione idrica dell'erba medica. Nota II. *Annali della Sperimentazione Agraria*, 1948, n. s., vol. II. Tombesi, L. Fotosintesi, respirazione e traspirazione in funzione del regime idrico. *Annali della Sperimentazione Agraria*, 1949, n. s., vol. III.

SUMMARY

CHEMICAL COMPOSITION OF SEEDS OF SOME PLANTS IN RELATION TO WATER AVAILABILITIES IN THE SOIL. II.

by Luciano Tombesi and Matilde Tarantola

The object of this paper is to find how the various water availabilities in the soil, affect the seed chemical composition in these plants: *Phaseolus vulgaris, Brassica campestris* var. *oleifera, Arachis hypogaea, Linum usitatissimum,* and *Vicia faba.*

From the analytical data reported it appears that: —

(1) Crude fats and proteins increase remarkably with increasing water availability.

(2) The content of cellulose and non-nitrogenous extracts increases in the seeds of plants grown in water deficiency.

(3) The saponification number was calculated for the fats of *Arachis hypogaea* and it was demonstrated that it increases with the greater water availability.

Moreover the different behaviour of plants and seeds in various water availabilities in the soil was noted. As this increases, fats and proteins increase in stem-tissues and decrease in seed-tissues.

Ricevuto il 7 marzo 1950.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Luciano Tombesi, Matilde Tarantola
Silvio Fortini e Maria Elisa Venezian

ATTIVITÀ CATALASICA ED ENERGIA CRITICA SU SEMI PROVENIENTI DA PIANTE A DIVERSO REGIME IDRICO

Introduzione

Con l'ausilio dei moderni concetti inerenti alla chimica cinetica abbiamo voluto calcolare l'energia critica delle complesse reazioni che intervengono nell'ambito dell'attività catalasica dei tessuti di semi provenienti da piante allevate a diverso regime idrico.

Tali piante appartenenti alle seguenti specie: *Vicia faba, Arachis hypogaea, Triticum vulgare, Linum usitatissimum* e *Phaseolus vulgaris* furono usate da uno degli autori per indagare l'andamento delle attività catalasica ed ossidasica, nonchè dell'intensità fotosintetica e respiratoria in funzione delle varie disponibilità idriche del suolo.

I semi appartenenti ai soggetti sottoposti a tale tipo di indagine furono appositamente scelti per completare il ciclo di studi intrapresi e per chiarire alcuni aspetti del problema concernente il destino delle catalasi nei vegetali.

Infatti, come abbiamo dimostrato in diversi lavori in corso di stampa, mentre nei tessuti verdi il contenuto in ossidasi tende ad aumentare durante il ciclo biologico e quello in catalasi, essendo inversamente proporzionale, tende a diminuire, nei semi, con il progredire della maturazione, si verifica esattamente il contrario: le catalasi aumentano o tutt'al più restano costanti mentre le deidrasi ossitrope scompaiono, tanto che nei tessuti di semi maturi appartenenti alle specie da noi studiate non abbiamo mai riscontrato un apprezzabile attività ossidasica.

I numerosi dati desunti dalle citate esperienze inoltre dimostrano come nel soma di piante poste in diverse condizioni idriche l'attività catalasica, a differenza di quella ossidasica, non subisca in media variazioni di sorta mentre nei semi, come appresso dimostreremo, le catalasi tendono ad aumentare con l'aumentare delle dosi di acqua somministrate alla coltura.

Per quanto riguarda la teoria da cui scaturisce il concetto di energia critica, crediamo utile, ai fini di una migliore comprensione del presente lavoro, premettere alcuni ragguagli relativi alla cinetica chimica sia dei sistemi omogenei che di quelli eterogenei.

Seguendo la teoria di Van't Hoff sappiamo che la costante di velocità K dipende dalla temperatura secondo la:

$$1) \qquad \frac{d \ln K}{d T} = \frac{W}{R T^2}$$

e che dal punto di vista cinetico $K = \frac{K_2}{K_1}$ per cui:

$$2) \qquad \frac{d \ln K}{d T} = d \frac{\ln \frac{K_2}{K_1}}{d T} = \frac{W}{R T^2} .$$

Nella 2) è facile vedere come la tonalità termica di una reazione è data dalla differenza delle due tonalità relative alle K_2 e K_1 in quanto:

$$3\text{-}a) \qquad \frac{d \ln K_2}{d T} = \frac{W_2}{R T^2} + B \qquad\qquad 3\text{-}b) \qquad \frac{d \ln K_1}{d T} = \frac{W_1}{R T^2} + B$$

e che le costanti di velocità dipendano, come abbiamo accennato, fortemente dalla temperatura.

Sulla base di queste acquisizioni Arrhenius sviluppò la sua teoria secondo la quale ogni reazione avviene in quanto esistono alcune molecole privilegiate denominate « attive » possedenti un calore di attivazione e trovantisi in equilibrio con quelle circostanti; tale equilibrio dipende dalla temperatura.

Se si designa con K_a la costante di equilibrio dei processi di attivazione $C_a \rightleftarrows C_1 + E$ si ha, tenendo conto della legge di Guldberg e Waage:

$$4) \qquad K_a = \frac{C_a}{C_1}$$

nella quale C_a rappresenta la concentrazione delle molecole attive e C_1 la concentrazione delle molecole inattive. Usando per K_a la teoria di Van't Hoff si ha:

$$5) \qquad \frac{d \ln K_a}{d T} = \frac{E_a - E_1}{R T^2} = \frac{E}{R T^2}$$

dalla quale per integrazione si ottiene:

$$6) \qquad K_a = A e^{-\frac{E}{R T}}$$

Con A = costante ed E = calore di attivazione ed energia critica.

Poichè C coincide con la concentrazione totale C delle molecole, la costante di equilibrio K_a deve essere considerata per la 6) quale frazione delle molecole capaci di attivarsi.

Dalle 6) per due diverse temperature assolute T_2 e T_1 si può calcolare la E tramite la:

$$7) \qquad E = 2{,}718\, R \frac{\lg K_2 - \lg K_1}{\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}}$$

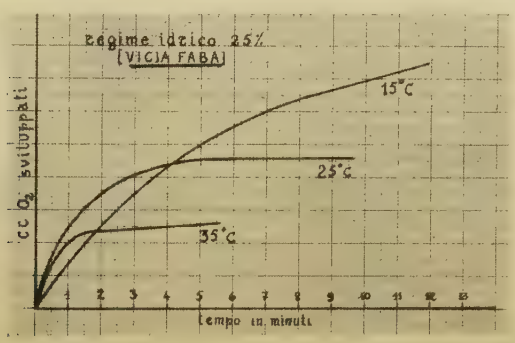
tenuto conto della trasformazione dei logaritmi neperiani in decimali.

Nel presente caso quale coefficiente di velocità alle temperature T_1 e T_2 venivano presi in considerazione i cc. di O_2 riportati a 0° e 760 mm., svolti durante la reazione a parità di tempo; la reazione veniva effettuata con la tecnica descritta in numerose memorie alle quali rimandiamo (3).

Poichè per il calcolo della energia critica fu necessario determinare l'attività catalasica alle temperature di 15°C e 25°C, si credette opportuno, ai fini di dimostrare il comportamento di tali enzimi nei riguardi dell'attivazione termica, operare anche a 35°C.

Le curve dei grafici I e II dànno l'andamento del fenomeno alle temperature anzidette.

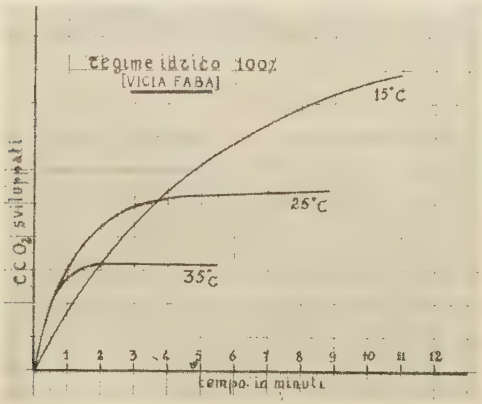
Grafico I



I valori delle velocità di reazione da noi riscontrate, misurabili dalle derivate delle curve riportate, sono in accordo con le vedute del Morgulis (2), in quanto quest'autore constatò come esse, a temperature superiori ai 30°C, tendano ad aumentare notevolmente (reazione esplosiva) mentre a temperature che vanno da 0°C a 15°C

tali velocità si riducono malgrado, poi, conducano a reazioni comportanti un maggior sviluppo di O_2.

Grafico II



Tali fatti il Morgulis li spiegò affermando che:

1) la decomposizione dell'H_2O_2 per opera della catalasi con liberazione di O_2 diviene più rapida con l'elevarsi della temperatura;

2) la distruzione della catalasi per opera dell'H_2O_2 aumenta con la temperatura.

In effetti, secondo le recenti ricerche di Chance, la catalasi andrebbe a formare un complesso attivo con il perossido di idrogeno il quale provocherebbe la scissione catalitica dell'H_2O_2 con la conseguente formazione di un complesso secondario stabile capace di diminuire la velocità di reazione.

Pertanto è inesatta l'affermazione inerente alla distruzione dell'enzima mentre è da considerare il complesso secondario quale inibitore del complesso primario avente funzione catalitica.

La reazione enzimatica ampiamente illustrata in altri lavori da alcuni degli autori consterebbe pertanto dei seguenti equilibri:

$$\text{Cat (OH)}_4 + H_2O_2 \rightleftharpoons \text{Cat (OH)}_3\text{ (—OOH) — I}$$

$$\text{Cat (OH)}_3\text{ (—OOH) — I} \rightleftharpoons \text{Cat (OH)}_3\text{ (—OOH) — II}$$

$$\text{Cat (OH)}_3\text{ (—OOH) — I} + H_2O_2 \rightleftharpoons \text{Cat (OH)}_4 + H_2O + O_2$$

in cui Cat $(OH)_3$ (—OOH) I è il complesso intermedio enzima-substrato di Michaelis e Menten, e Cat $(OH)_3$ (—OOH) II è invece il complesso secondario inattivo.

Parte sperimentale

I semi delle varie specie sui quali sono state effettuate le determinazioni dell'attività enzimatica ed il conseguente calcolo dell'energia critica, come abbiamo accennato nella parte introduttiva, provenivano da piante allevate a diverso regime idrico.

Nel seguente prospetto sono riportati i valori dell'attività catalasica in funzione delle diverse disponibilità idriche del suolo:

	Regime idrico	Attività catalasica su semi (a 25°C): cc di O_2 liberato
Vicia faba	100 %	6,7
	81 %	6,4
	60 %	5,75
	42 %	4,9
Linum usitatissimum (« var. « Marsich »)	100 %	15,85
	55 %	15,1
	carenzato ad inizio della fioritura *	15,85
Triticum vulgare var. « Mentana »	100 %	6,4
	50 %	6,25
Triticum vulgare var. « Frassineto »	100 %	5,45
	50 %	6,3
Arachis hypogaea	100 %	24,3
	78 %	24,05
	59 %	23,3
Phaseolus vulgaris	100 %	6,9
	60 %	4,35

Le singole determinazioni sono state ripetute in doppio e ne è stata calcolata la media. L'attività catalasica dei semi, fatta eccezione per alcune specie, dai dati riportati sembra diminuire con il diminuire del regime idrico.

L'energia critica relativa è stata calcolata per le temperature tra 15° e 25°C, dalle curve di sviluppo di O_2 ottenute, alcune delle quali sono illustrate nei grafici III, IV, V e VI.

---

* Alle piante di tale prova furono somministrate le medesime dosi di acqua del regime idrico normale, cioè quelle richieste dalla coltura (100%); esse furono sospese all'inizio della fioritura.

Grafico III

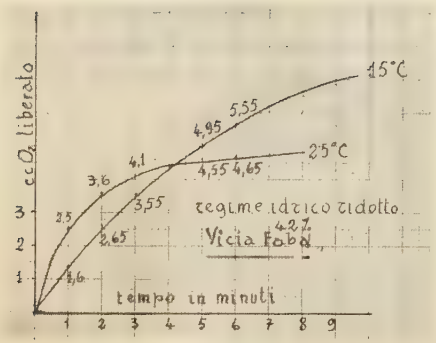


Grafico IV

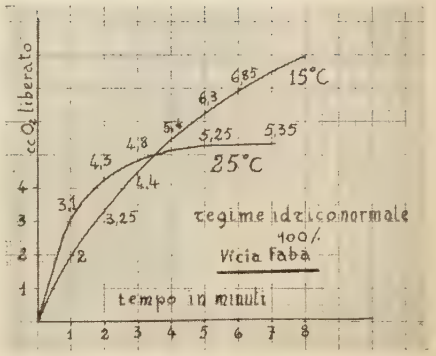


Grafico V

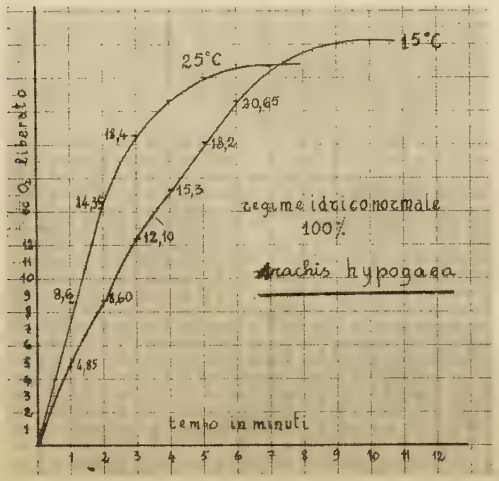


Grafico VI

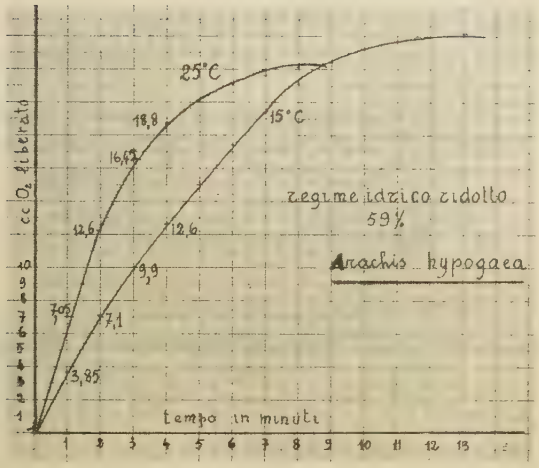
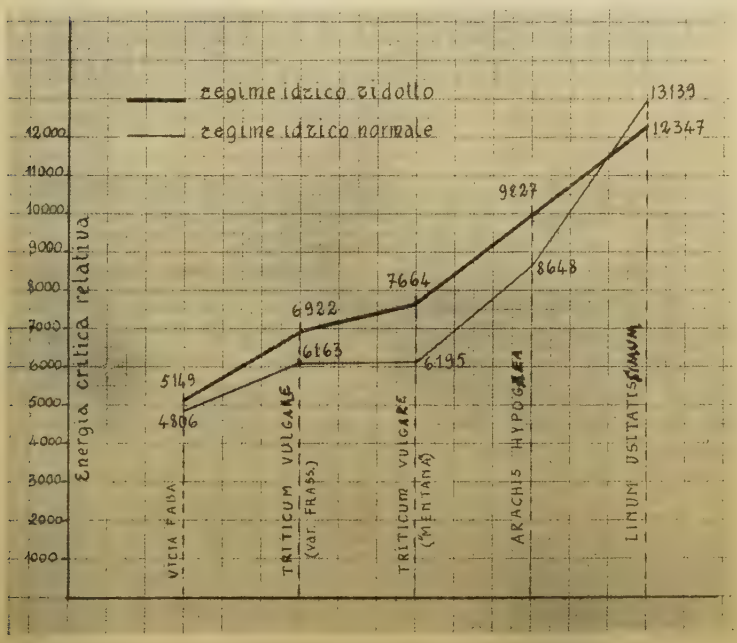


Grafico VII



I valori relativi ai semi delle varie specie sono riportati nella tabella I; da essi si possono trarre le seguenti deduzioni:

1) l'energia critica relativa inerente alle catalasi è, fatta eccezione per il lino, costantemente superiore nei semi provenienti da piante carenzate d'acqua;

2) l'energia critica relativa, come è mostrato nel grafico VII, è massima nei semi ad elevato contenuto lipidico, media nei semi a contenuto prevalentemente amilaceo e tende a diminuire in quelli a contenuto prevalentemente proteico;

3) l'energia critica relativa aumenta con l'aumentare della attività catalasica dei tessuti.

Tabella I

Specie	Energia critica relativa	
	regime idrico ridotto	regime idrico normale
Vicia faba	5149	4806
Arachis hypogaea	9827	8648
Linum usitatissimum	12347	13139
Triticum vulgare var. «Mentana»	7664	6195
Triticum vulgare var. «Frassineto»	6922	6163

RIASSUNTO

Gli AA. si sono proposti di indagare come l'attività catalasica e l'energia critica relativa di reazione variino nei tessuti di semi provenienti da piante allevate a diverso regime idrico.

Dai dati riportati nel contesto essi hanno dedotto quanto segue:

Il contenuto in catalasi dei semi delle specie studiate diminuisce con il decrescere delle disponibilità idriche del suolo e risulta massimo allorchè le sostanze di riserva sono costituite in prevalenza da lipidi.

L'energia critica di reazione aumenta nei tessuti di semi ottenuti con limitate dosi di acqua ed aumenta considerevolmente con l'aumentare del contenuto in catalasi.

SUMMARY

CATALASE ACTIVITY AND CRITICAL ENERGY ON SEEDS COMING FROM PLANTS WITH DIVERSE WATER REGIMES

by Luciano Tombesi, Matilde Tarantola, Silvio Fortini and Maria Elisa Venezian

The object of this study is to learn how the catalase activity and relative critical energy of reaction vary in the tissues of seeds coming from plants raised with differing water regimes.

From the data reported in the context, the following conclusions have been reached: —

The content in catalase of the seeds of the species studied diminishes with the decrease in water supply in the soil and gives maximum results when the reserve substances are marked by a prevalence of fats.

The critical energy of reaction increases in tissues of seeds obtained with limited dosages of water and increases considerably with the augmentation of the content in catalase.

BIBLIOGRAFIA

(1) Drouineau, G., et Gouny, P. Contribution à l'étude de la catalase des tissus foliaires. *Annales Agronomiques,* 1946, n. s., 16ª année, n° 1.

(2) Morgulis, S., Beber, M., and Rabkin, J. Studies on the effect of temperature on the catalase reaction. *Journal of Biological Chemistry,* 1926, 68.

(3) Tombesi, L. Respirazione ed attività ossidasica e catalasica durante i processi di cicatrizzazione su tuberi sani e malati di *Solanum tuberosum. Annali della Sperimentazione Agraria,* 1949, n. s., vol. III, n. 5.

Ricevuto il 6 aprile 1950.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Maria Elisa Venezian

L'ATTIVITÀ OSSIDASICA IN RELAZIONE CON LA SIMBIOSI BATTERICA DELLE LEGUMINOSE

Nota I

Introduzione

In seguito al complesso di studi eseguiti presso la Stazione chimico-agraria sperimentale di Roma sull'attività ossidasica e catalasica di diverse specie di piante agrarie, allo scopo di poter stabilire l'importanza di tali enzimi nei riguardi dei processi fotosintetici e respiratori, si è creduto opportuno indirizzare alcune ricerche onde rilevare gli eventuali rapporti intercorrenti tra contenuto ossidasi e simbiosi batterica nelle piante di *Vicia faba*.

Secondo la classificazione di Oppenheimer, le ossidasi formano insieme con i due sottogruppi delle deidrasi e delle ossidrasi, il gruppo delle idrochinasi, di quegli enzimi cioè che soprassiedono alla demolizione generale della materia organica.

Le ossidasi si dividono alla loro volta in cromossidasi solubili e in citocromossidasi insolubili.

Le citocromossidasi, più diffuse specialmente nel mondo animale, prenderebbero parte al processo di respirazione secondo lo schema di Warburg e Keilin:

substrato → trasportatore → citocromo c → cit. b → cit. a →
|
deidrasi → citocromossidasi O_2

Data la generale incapacità delle deidrasi a reagire direttamente con il complesso del citocromo, la respirazione potrà svolgersi solo in seguito all'intervento di un trasportatore o di un sistema di trasportatori.

Szent-Györgi, basandosi sul fatto osservato che la succinoidrasi sarebbe capace di ridurre direttamente il citocromo e notandone frequentemente la presenza nelle cellule, ha elaborato un sistema di acidi a quattro atomi, a mezzo dei quali l'idrogeno passerebbe

dalle deidrasi al gruppo del citocromo. Lo schema assumerebbe allora la seguente forma:

substrato → ac. ossalacetico → ac. malico → ac. fumarico →
|
deidrasi
→ ac. succinico → citocromo → citocromoss. → O_2

La coesistenza nella stessa cellula di costituenti di più sistemi di trasmissione dell'idrogeno (per es. il fermento giallo ed il sistema Warburg-Keilin-Szent-Györgi) ha fatto pensare ad una preferenza dell'idrogeno verso un sistema piuttosto che verso un altro: preferenza in diretta dipendenza dalla natura del donatore.

È possibile chiarire tale punto con l'aiuto degli inibitori KCN, CO ed uretano: infatti nel sistema Warburg-Keilin-Szent-Györgi si è potuto localizzare il punto d'intervento di tali inibitori. Se la respirazione viene inibita da narcotici della serie dell'uretano, ciò è dovuto ad un'azione inibitrice al livello delle deidrasi, mentre l'inibizione dei cianuri ed dell'ossido di carbonio agisce sulle citocromossidasi (5).

substrato → sistema Szent-Györgi → citocromi a, b, c → citocromoss. → O_2
uretano
deidrasi
KCN, CO.

Inibendo la respirazione con i cianuri, ne persiste una piccola parte che si compie senza l'intervento delle citocromossidasi; ciò ha fatto supporre che tale respirazione fosse dovuta alla presenza del fermento giallo che è insensibile ai cianuri.

Presso questa Stazione sono state eseguite ricerche in tal senso, su tuberi di patata, al fine di poter precisare il meccanismo del sistema di respirazione del materiale in esame. Riportiamo nella tabella I i risultati di tali determinazioni:

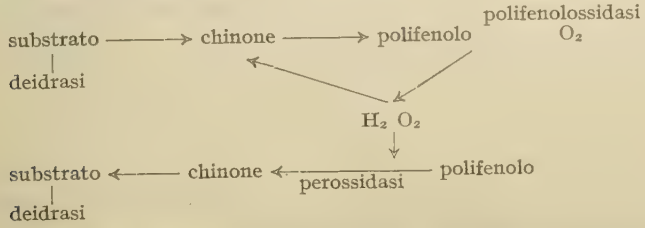
Tabella I

Attività ossidasica espressa in mm³ di O_2 assorbito		
in condizioni normali	in presenza di uretano	in presenza di KCN
620	720	
620	510	—
1100	1270	—
1310	1500	—
960	920	70
1170	1110	150
Medie 966	1005	44

Da tali ricerche si può rilevare una inibizione totale o quasi della attività ossidasica con il KCN; mentre l'aggiunta di uretano alla sospensione enzimatica mostrerebbe una leggera azione stimolante sul sistema stesso.

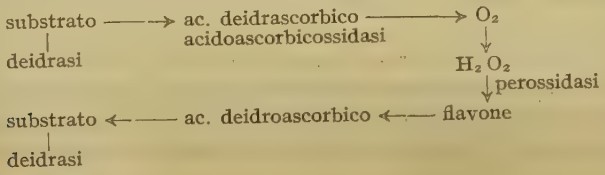
Trattandosi di una attività ossidasica sensibile ai cianuri è indubbio trattarsi di sistemi metallo–enzimi del tipo delle citocromossidasi.

Nei vegetali il sistema delle citocromossidasi può venir sostituito con il sistema metallo proteinico analogo delle polifenolossidasi che ossidano i polifenoli presenti nella cellula vegetale a chinoni. In tal caso la respirazione si svolge nel seguente modo: l'idrogeno del donatore riduce il chinone a polifenolo, il quale in presenza di ossigeno e polifenolossidasi viene ossidato a chinone con formazione di acqua ossigenata. Quest'ultima con l'intervento delle perossidasi ossida di nuovo una molecola di polifenolo a chinone che a sua volta può essere ridotta da un'altra molecola del donatore. Il processo di respirazione decorrerebbe allora secondo il seguente schema:



Un altro sistema di trasportatori di idrogeno che si riscontra spesso nei vegetali, i cui succhi non anneriscono all'aria, comporta la presenza, nel sistema, dell'acido ascorbico. Secondo tale sistema l'acido ascorbico per l'intervento di una acidoascorbicossidasi verrebbe ossidato ad acido deidroascorbico il quale può fungere in tal modo da accettore di idrogeno da un donatore. Il perossido formatosi nel corso della reazione andrebbe ad ossidare, in presenza di una perossidasi, un composto organico della famiglia dei flavoni che può essere un flavone, un flavonolo, un flavonone.

Il flavone una volta ossidato va ad ossidare una molecola di acido ascorbico: l'acido deidroscorbico formatosi servirà da accettore di idrogeno per ripassare allo stato di acido ascorbico. La reazione decorrerà nel modo seguente:



Tale schema come è rappresentato sopra, non è però completo, in quanto le deidrasi non riducono l'acido ascorbico direttamente: il termine intermedio viene fornito dal glutatione. Substrati come l'esofosfato e l'acido citrico, in presenza delle deidrasi specifiche, forniscono l'idrogeno al glutatione che dalla forma GS–SG, passa alla forma ridotta GSH capace di trasferire l'idrogeno all'acido ascorbico.

Nelle piante i cui succhi imbruniscono rapidamente all'aria, Lavallay e Patron darebbero invece la seguente spiegazione: i flavoni ossidati formano dei chinoni molto instabili che in parte si polimerizzano e formano dei prodotti bruni più o meno insolubili. La frazione del chinone non polimerizzata agisce sull'acido ascorbico ossidandolo ad acido deidroascorbico e nel contempo il polifenolo viene rigenerato:

A) Acido ascorbico + acido ascorbicoossidasi + O_2 → acido deidroascorbico + H_2O_2

B) H_2O_2 + perossidasi + flavonoli → chinone → che in parte si polimerizza

C) Chinone + acido ascorbico → acido deidroascorbico + flavonolo.

Le polifenolossidasi sono metallenzimi il cui gruppo prostetico è rappresentato dal rame. Esiste fra attività enzimatica e contenuto in rame dell'enzima, una proporzione lineare.

Nella preparazione enzimatica più pura ottenuta da Kubowitz il 0,2 % di rame corrisponde ad una attività enzimatica $Q_{O_2} = 34.500$, essendo Q_{O_2} i mm^3 di ossigeno consumati dal substrato per ora e per mmg. di enzima.

Il rame dell'enzima è bivalente ed ossidando la pirocatechina si riduce; viene ossidato di nuovo dall'ossigeno atmosferico:

$$4\ Cu^{++}\ (enzima) + 2\ pirocatechina \rightarrow 4\ Cu^{+}\ (enzima) + 2\ o\text{–}chinone + 4\ H^{+}$$
$$4\ Cu^{+}\ (enzima) + 4\ H^{+} + O_2 \longrightarrow 4\ Cu^{++}\ (enzima) + 2\ H_2O$$

L'enzima viene inibito da quei composti che unendosi al rame ne bloccano l'attività; infatti bloccando il rame con i cianuri l'enzima perde ogni attività con lo stesso risultato che già riscontrammo per le citocromossidasi.

Il fenolo ed il p–cresolo vengono ossidati 1100 volte più lentamente della pirocatechina; nel *Lactarius piperatus* però è stato riscontrato un enzima circa dieci volte più attivo sul p–cresolo che sulla pirocatechina. Il rapporto tra attività catalasica e creolasica non è

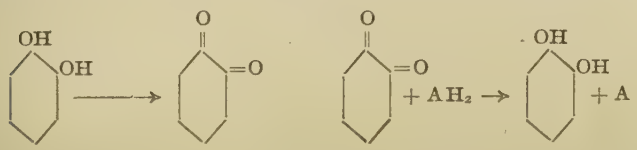
quindi necessariamente un fattore costante; durante il processo di purificazione ed isolamento dell'enzima tale rapporto varia moltissimo. Questa osservazione ha fatto sorgere il problema se l'enzima sia in possesso contemporaneamente dei due tipi di attività o se sia invece una miscela di due enzimi ad attività differenti.

L'ossidazione della pirocatechina richiede due grammi atomi di ossigeno per mole; il prodotto d'ossidazione è l'o–chinone la cui formazione richiederebbe invece un solo grammo atomo di ossigeno per mole. Molti hanno suggerito la formazione di acqua ossigenata per spiegare l'assorbimento del secondo atomo di ossigeno.

Seguendo l'andamento dell'ossidazione enzimatica al manometro, si può osservare che la reazione in una soluzione diluita di pirocatechina avviene in due tempi: al rapido consumo del primo atomo di ossigeno fa seguito una notevole diminuizione dell'ossigeno assorbito. Si può spiegare allora la reazione in questi termini: la pirocatechina viene ossidata ad o–benzochinone utilizzando un solo atomo di ossigeno; in un secondo tempo l'o–benzochinone si trasforma in una sostanza che si comporta verso l'enzima come la pirocatechina.

Le polifenolossidasi agiscono poi sulla pirocatechina che con l'intervento dell'ossigeno atmosferico viene ossidata ad o–benzochinone.

L'o–benzochinone andrebbe a sua volta ad ossidare l'acido ascorbico, presente nel sistema e si rigenerebbe la pirocatechina che ritorna a fungere da accettore come si può osservare nello schema seguente:



L'acido ascorbico non viene ossidato dall'enzima e non ne inibisce nè ne accelera l'attività.

Su tale reazione è basato il metodo manometrico per la misurazione dell'attività ossidasica, impiegato nelle ricerche, oggetto della presente nota. Il metodo presenta notevoli vantaggi per la rapidità e la precisione rispetto a quello chimico.

Parte sperimentale

La tecnica seguìta nella misura dell'attività ossidasica è la stessa usata dal Tombesi (13) in precedenti lavori e crediamo opportuno ometterla perchè già ampiamente trattata.

La determinazione manometrica dell'ossigeno assorbito veniva eseguita dopo due ore dall'inizio della triturazione del materiale poichè in seguito a prove eseguite dopo una, due e tre ore, l'enzima mostrava un massimo di attività nella prova eseguita dopo due ore.

Le determinazioni delle attività enzimatiche ed i preparati microscopici vennero eseguiti, parallelemente, su piante di *Vicia faba* coltivate in pieno campo.

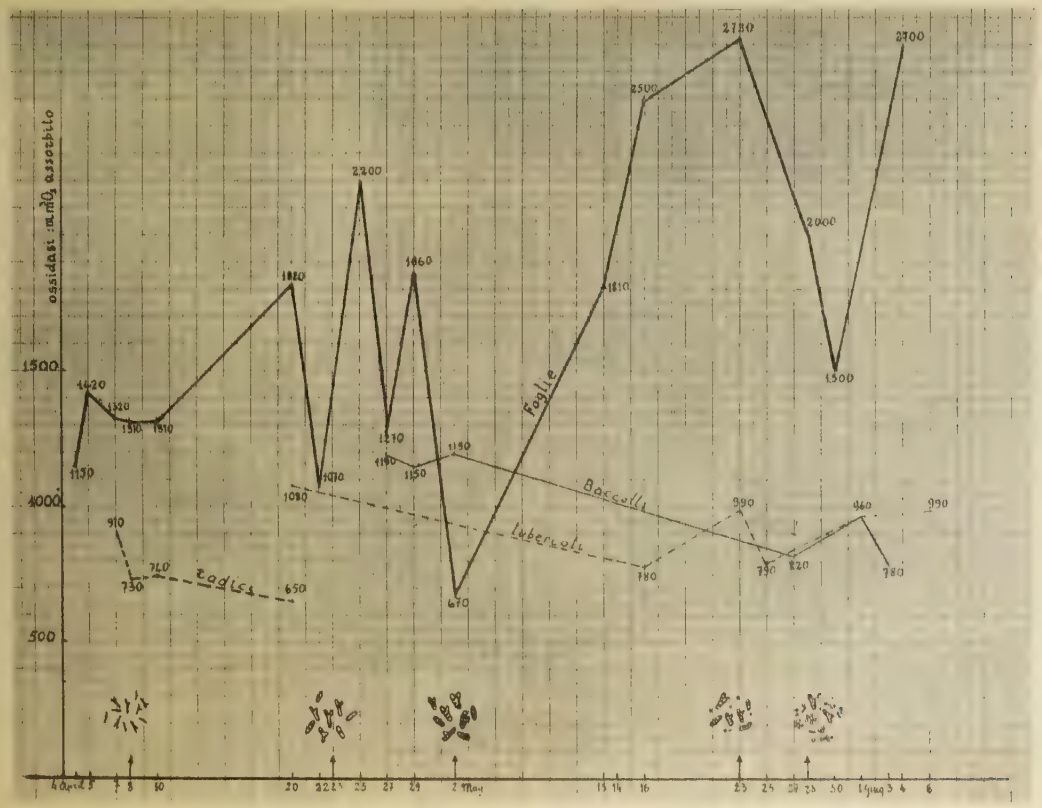
Tabella II

Attività ossidasica nei vari organi e nei tubercoli di *Vicia faba*

Data	Attività ossidasica espressa in mm³ di O_2 assorbito			
	Foglie	Radici senza tubercoli	Tubercoli	Frutti
4 aprile 1949	1150			
5 aprile 1949	1420			
7 aprile 1949	1320	910		
8 aprile 1949	1310	730		
10 aprile 1949	1310	740		
20 aprile 1949	1820	650	1080	
22 aprile 1949	1070			
25 aprile 1949	2200			
27 aprile 1949	1270			1190
29 aprile 1949	1860			1150
2 maggio 1949	670			1190
13 maggio 1949	1810			
14 maggio 1949			780	
16 maggio 1949	2500			
23 maggio 1949	2720		990	
25 maggio 1949			790	
27 maggio 1949				820
28 maggio 1949	2000			
30 maggio 1949	1500			
1 giugno 1949			970	960
3 giugno 1949				780
4 giugno 1949	2700			
6 giugno 1949			990	
Medie	1684	757	935	1015

Nella tabella II vengono riportati i valori dell'attività ossidasica delle foglie, delle radici previa asportazione dei tubercoli batterici, dei tubercoli isolati e dei frutti (in principio la determinazione veniva eseguita sul baccello intero ed in seguito sul solo seme).

Il periodo sperimentale è compreso tra il 4 aprile, data che corrisponde all'incirca alla comparsa dei tubercoli batterici ed il 6 giugno, epoca della completa maturazione e raccolta dei semi.


ossidasi: mM O2 assorbito
1500
4000
500
Foglie
Baccelli
Tubercoli
Radici
1130
1420
1320
1510
1510
1820
1070
2200
1270
1660
670
1810
2500
2780
1500
2700
1080
1150
1150
780
990
820
460
990
910
730
740
650
4 April 5 7 8 10 20 22 23 25 27 29 2 May 15 14 16 23 25 29 30 30 1 June 3 4 6

Dal confronto delle quattro curve costruite con i valori delle diverse attività ossidasiche (grafico I), si possono rilevare le seguenti relazioni degne di nota:

a) l'attività ossidasica riscontrata nelle radici tende a diminuire col tempo e viene accennata una proporzionalità inversa tra tale attività e quella delle foglie;

b) le attività ossidasiche dei frutti e dei tubercoli mostrano un andamento parallelo, rimanendo maggiore l'attività dei tubercoli;

c) il punto di massima attività rilevata nelle foglie è dato dal valore del 25 aprile e corrisponde al periodo di allegagione dei frutti. Viene così ancora una volta confermata tale relazione già notata in altre specie (13);

d) ai massimi di attività ossidasica, notati nelle foglie nei giorni 25 aprile e 23 maggio corrispondono i minimi della stessa attività riscontrata nei frutti e nei tubercoli;

e) al termine del periodo sperimentale l'attività ossidasica del seme maturo è risultata nulla.

Al fine di trovare le eventuali relazioni intercorrenti tra attività ossidasica e simbiosi batterica, scopo primo del presente lavoro, contemporaneamente alle determinazioni enzimatiche si procedeva alla preparazione del materiale microscopico.

I tubercoli, accuratamente lavati, venivano spappolati in poche gocce di acqua distillata; una goccia di tale sospensione veniva portata con l'ansa sul vetrino coprioggetti, fissata, colorata e successivamente montata in balsamo.

Nelle fotografie dei cinque preparati microscopici si possono notare le varie forme caratteristiche del *Bacterium radicicola* riscontrate nel tessuto batteroide delle radici di *V. faba*, durante l'intero periodo sperimentale.

La formazione delle neoplasie radicali causata dall'attacco del batterio azotofissatore è, come noto, precedente alla fioritura della leguminosa; il preparato riprodotto dalla fig. 1 è stato eseguito durante il periodo di massima proliferazione cellulare del tessuto batteroide. In questo preparato, oltre alle regolari forme batteriche ad I, si possono rilevare i cosidetti batteroidi del *Bact. radicicola:* forme ad Y molto esili con contorni regolari e ben colorate dai reattivi nucleinici.

Molto discussa rimane ancora la natura e la funzione dei batteroidi. Mueller e Stapp li considerano forme teratologiche (9) ed anche secondo Bazarewsky (1) essi sarebbero forme involutive del microrganismo, incapaci di moltiplicarsi e probabilmente

FIG. 1. – Forme batteriche e batteroidi del *Bacterium radicicola* (8–4–1949).

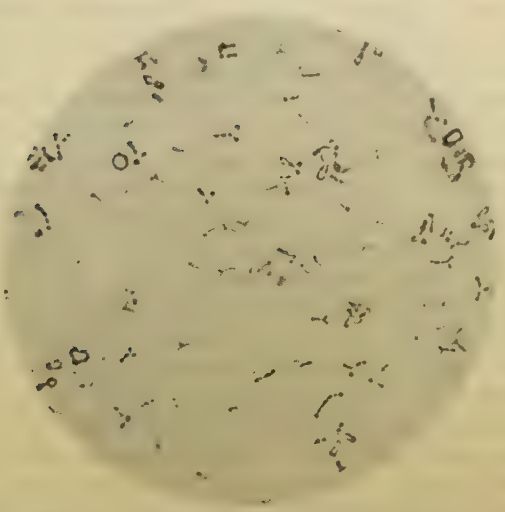


FIG. 2. – Inizio di vacuolizzazione delle forme batteroidi del *Bacterium radicicola* (23–4–1949).

anche di fissare l'azoto. Secondo Pfeiffer (10) invece tali forme non sono da attribuirsi ad un processo degenerativo del *Bact. radicicola*, ma farebbero parte di un normale ciclo di evoluzione del batterio stesso.

Che i batteroidi abbiano un ruolo principale nella fissazione dell'azoto è anche dimostrato da Brenchley e Thornton (3): da ricerche eseguite da questi autori risultò che se nel terreno vi è completa deficenza di boro i tubercoli radicali sono molto poco numerosi, di struttura anormale, le forme batteroidi non si formano e la fissazione d'azoto risulta considerevolmente diminuita.

Le forme batteroidi presentano in seguito un processo di rigonfiamento, come abbiamo riscontrato nel preparato della fig. 2, eseguito all'inizio della fioritura della leguminosa. Nell'interno dei batteroidi stessi possiamo inoltre notare delle formazioni granulari di cromatina, che segnano l'inizio del processo di assorbimento e di digestione delle forme batteroidi.

Nel preparato che data dal periodo culminante della fioritura delle Leguminose, le forme batteroidi sono maggiormente ingrossate ed il contorno diventa regolare.

Nei tubercoli in via di disfacimento (fig. 4) le forme batteroidi presentano uno stadio di vacuolizzazione avanzato; le bande di colorazione diversa sono qui molto pronunciate, il processo di rigonfiamento ha raggiunto il massimo ed i contorni delle forme stesse appaiono molto irregolari. Nel preparato eseguito su tubercoli quasi interamente distrutti (fig. 5), non si notano più distintamente le forme batteriche e batteroidi ma piuttosto ammassi irregolari di corpuscoli sferici, quali già notammo precedentemente nell'interno degli stessi batteroidi.

A proposito di tali formazioni granulari e dell'eventuale loro inclusione in un ipotetico ciclo biologico del *Bact. radicicola*, ritengo opportuno riportare integralmente quanto a questo riguardo il De' Rossi disse in una sua comunicazione (4).

Poichè secondo alcuni autori nei tubercoli radicali delle Leguminose si riscontrerebbero simbiosi del *Bact. radicicola* con il *Bact. radiobacter* o con il *Bact. mycoides* oppure con il *Bact. radiobacter* ed una forma simile al *Bact. tumefaciens*, secondo il De' Rossi: « il est bien possible que l'examen de cultures impures ait eu aussi son influence sur l'activité des bâtisseurs modernes de cycles de développement, à qui le *Bact. radicicola* n'a pas échappé. Bewley et Hutchinson ont reconnu dans le développement cultural de ce microbe l'apparition de formes en coccus immobiles, de formes bacillaires mobiles et de formes vacuolisées avec inclusions de chromatine qui, en s'arrondissant, reproduiraient les coccus. Avec cela,

Fig. 3. – Ingrossamento delle forme batteroidi del *Bacterium radicicola* (2–5–1949).

Fig. 4. – Processo di digestione dei batteroidi del *Bacterium radicicola* (23–5–1949).

à part le fait d'appeler coccus les granules chromatiques que l'ont peut observer dans certaines conditions culturales, on ne s'eloigne pas beaucoup des connaissances classiques sur la morphologie du *Bact. radicicola.* Thornton et Gangulee de l'examen microscopique de cultures dans la terre concluent que le microbe tubercoligène passe à travers un cycle de formes comprenant de courtes bactéries qu'on peut colorer uniformément à l'érythrosine phéniquée, de longues bactéries à bandes transversales de matière chromatique, des coccus mobiles et pourvus de cils, et, de nouveau, de courtes bactéries ».

Altri autori (6, 7, 9) hanno costruito cicli biologici per il *Bact. radicicola* ma « également basé sur l'interprétation plus ou moins arbitraire de préparations microscopiques. ».

Le recenti ricerche sul ciclo biologico del microrganismo vertono principalmente sulla presenza di un batteriofago specifico (14): a questo si dovrebbe il processo di vacuolizzazione e di digestione delle forme batteriodi presenti nei tubercoli radicali.

Il grafico I osservato in relazione con le forme caratteristiche del *Bact. radicicola* notate nei preparati microscopici nel corso del periodo sperimentale acquista un significato fondamentale. Infatti:

a) Un'abbassamento dell'attività ossidasica viene riscontrata nelle foglie della leguminosa, durante il periodo d'infezione e del rapido accrescimento del tessuto batteroide nelle radici. Ciò potrebbe essere dovuto alla prevalenza iniziale di un metabolismo parassitico del batterio per cui la simbiosi si svolge a completo svantaggio della pianta superiore, e a completo vantaggio del microrganismo: ne conseguirebbe in tal modo un acceleramento del metabolismo del vegetale superiore cui fa seguito un esaurimento, e quindi diminuizione dell'attività ossidasica, ed un aumento dell'attività stessa nel tessuto batteroide.

b) L'attività ossidasica riscontrata nelle radici della leguminosa risulta logicamente maggiore nel tessuto batteroide che non nella radice privata dei tubercoli, in quanto è in questi ultimi che avviene una maggiore proliferazione cellulare.

c) Durante l'inizio della vacuolizzazione dei batteroidi (20–29 aprile 1949), si nota un sensibile aumento dell'attività ossidasica nelle foglie ed in questo stesso periodo vengono notati i massimi della stessa attività enzimatica nei tubercoli e contemporaneamente nei frutti.

d) Dopo il basso valore riscontrato il 2 maggio 1949, data corrispondente al notevole ingrossamento e deformazione delle forme batteroidi (fig. 3), l'attività ossidasica nelle foglie aumenta rapidamente

mentre decresce quella nei tubercoli e nei frutti. La leguminosa comincia probabilmente in questo periodo a risentire i benefici effetti della simbiosi batterica.

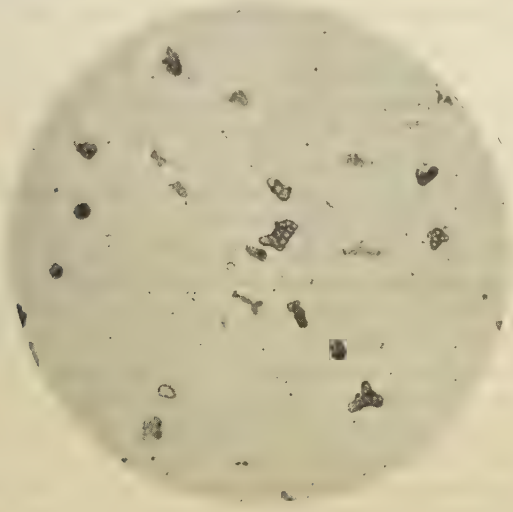


Fig. 5. – Le forme batteroidi del *Bacterium radicicola* al termine della simbiosi (28–5–1949).

e) Un'altra ricaduta dell'attività ossidasica viene notata nelle foglie di *Vicia faba*, quando nel tessuto batteroide ormai in completo disfacimento, le forme batteroidi sono al termine del loro processo di digestione (fig. 5).

f) La successiva ripresa dell'attività ossidasica nella foglia (4 giugno 1947), sarà probabilmente connessa col completo disfacimento dei tubercoli e quindi con la fine della simbiosi.

Si ha in animo di estendere le ricerche sulla simbiosi batterica delle leguminose in relazione anche al rapporto $\frac{\text{glutatione ossidato}}{\text{glutatione ridotto}}$ quale indice dello stato di ossido–riduzione del tessuto vegetale, tanto più che Marimpietri e Gisondi (8) hanno messo in luce che i tubercoli radicali di *Vicia faba* presentano un altissimo contenuto in glutatione, peraltro tutto sotto la forma ridotta.

Ringrazio vivamente il prof. L. Marimpietri e il dott. L. Tombesi per essermi stati larghi di consigli e di aiuto nella esecuzione del presente lavoro.

RIASSUNTO

Al fine di mettere in risalto le eventuali correlazioni tra attività ossidasica e simbiosi batterica, si è proceduto contemporaneamente alle determinazioni enzimatiche nelle foglie, nelle radici, nei tubercoli e nei frutti di *Vicia faba* ed alla preparazione del materiale microscopico.

Il punto di massima attività ossidasica corrisponde al periodo dell'allegagione dei frutti. Al termine del periodo sperimentale l'attività ossidasica del seme maturo è risultata nulla.

Dai valori delle attività ossidasiche (riferite nelle curve raccolte nel grafico I) correlati dalle osservazioni che si rilevano dalle fotografie dei preparati microscopici, dai quali appaiono le varie forme caratteristiche del *Bacterium radicicola* riscontrate nel tessuto batteroide delle radici di *V. faba* durante il periodo sperimentale, si ricava:

1) all'inizio della simbiosi si riscontra nelle foglie un abbassamento dell'attività ossidasica, dovuto probabilmente alla prevalenza iniziale di un metabolismo parassitico del batterio;

2) l'attività ossidasica nelle foglie è in sensibile aumento all'inizio della vacuolizzazione delle forme batteroidi;

3) un abbassamento dell'attività ossidasica si nota nel periodo di ingrossamento e deformazione delle forme batteroidi (2 maggio 1949) e durante il completo disfacimento delle stesse;

4) la successiva ripresa dell'attività ossidasica nelle foglie (4 giugno 1949) è probabilmente connessa con il termine della simbiosi.

SUMMARY

OXIDASE ACTIVITY IN RELATION TO THE BACTERIAL SYMBIOSIS OF LEGUMINOUS PLANTS. I.

by Maria Elisa Venezian

In order to show clearly the eventual correlations between oxidase activity and bacterial symbiosis the author proceeded contemporaneously in the determination of the enzymes in the leaves, the roots, the tubercles and the pods of *Vicia faba* and in the preparation of microscopic material.

The point of maximum oxidase activity corresponds to the period of the setting of the pods. At the end of the experimental period the oxidase activity of the ripe seeds gave negative results.

From the values of the oxidase activity (see the curve traced in graph I) correlated from the observations which are shown by the photograph of microscopic preparations, on which appear the various characteristic forms of *Bacterium radicicola* encountered in the bacteroid tissue of the roots of *V. faba* during the experimental period, the following deductions are made: —

(1) At the beginning of the symbiosis a lowering of oxidase activity in the leaves is observed, due probably to the initial prevalence of a parasitic metabolism of the bacterium;

(2) The oxidase activity in the leaves is sensibly augmented at the beginning of the vacuolization of the bacteroid forms;

(3) A lowering of the oxidase activity is noted in the period of the enlarging and deformation of the bacteroid forms (May 2, 1949) and during the complete decay of the same;

(4) The successive renewal of oxidase activity in the leaves (June 4, 1949) is probably connected with the end of the symbiosis.

BIBLIOGRAFIA

(1) Bazarewski. *Zentralbl. f. Bakteriol.*, 1928, LXXIII.

(2) Bolcato, V. Chimica delle fermentazioni. 1947.

(3) Brenchley and Thorton. *Proceed. R. Soc. London*, 1925, XCVIII.

(4) De' Rossi, G. *Bollettino Sez. Ital. Soc. Intern. Microbiol.*, 1932, fasc. XI.

(5) Florkin, M. Introduction à la biochimie générale. 1946.

(6) Gibson, J. *Agricult. Science*, 1928, XVIII.

(7) Kas. Rif. in *Zentralbl. f. Bakteriol.*, 1928, II, LXXVI.

(8) Marimpietri, L. e Gisondi, A. *La Ricerca Scientifica*, 1948, numero speciale « Agricoltura ».

(9) Mueller und Stapp. *Arb. Biol. Reichsanst. Land- u. Forstw.*, 1925, XIV.

(10) Pfeiffer. *Zentralbl. f. Bakteriol.*, 1929, LXXIX.

(11) Schoenberg. *Zentralbl. f. Bakteriol.*, 1929, LXXIX.

(13) Tompesi, L. *Annali della Sperimentazione Agraria*, 1950, nuova serie, vol. IV.

(14) Verona, O. Elementi di microbiologia pedologica. Macrì, 1947.

Ricevuto il 6 aprile 1950.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Silvio Fortini e Maria Elisa Venezian

STUDIO SU ALCUNI SISTEMI ENZIMATICI DELL' *ARACHIS HYPOGAEA*

Parallelamente alle ricerche eseguite sull'*Arachis hypogaea* (1) tendenti a correlare l'attività respiratoria ed enzimatica e la composizione chimica con il diverso regime idrico a cui le piante venivano coltivate, abbiamo ritenuto importante seguire l'andamento delle ossidasi e delle catalasi su piante della stessa specie allevate in pieno campo.

Il metodo usato per la determinazione dell'attività catalasica viene qui tralasciato, perchè già riportato in altri lavori (2).

Vogliamo invece accennare alle più recenti vedute sulla dibattuta questione del meccanismo di azione della catalasi, data l'importanza che esse hanno per l'interpretazione dei risultati ottenuti lavorando in condizioni il più possibile vicine alla realtà.

Secondo la teoria di P. George (4), la catalasi agisce sull'acqua ossigenata in due tempi: in un primo momento si ha un rapido svolgimento iniziale di ossigeno della durata di circa due minuti, cui fa seguito uno svolgimento lento del gas che si protrae anche per un'ora.

Lo stesso autore, misurando l'emissione di ossigeno a varie concentrazioni di acqua ossigenata, ha trovato che la velocità di svolgimento del gas è molto forte a basse concentrazioni di H_2O_2, raggiunge un massimo con H_2O_2 0,07 M per poi diminuire ad ulteriori aumenti della concentrazione del perossido.

Egli constatò inoltre che, trattando la catalasi con concentrazioni moderate di $Na\,N_3$ e di KCN, veniva inibito il rapido svolgimento iniziale di O_2 mentre rimaneva invariata la fase stazionaria della reazione. In base a tali risultati egli formulò un'ipotesi secondo la quale la catalasi in presenza di H_2O_2 esisterebbe in due forme:

una molto labile e fortemente attiva la quale si trasforma in una seconda molto più stabile e poco attiva, responsabile del lento svolgimento di O_2.

Poichè tale passaggio da una forma all'altra risulta quantitativamente reversibile, non si può attribuire la diminuzione dell'attività enzimatica ad una distruzione, se pure parziale, dell'enzima.

Per dare una spiegazione della istantanea combinazione dell'inibitore con la forma più attiva della catalasi, e del perossido con l'enzima libero, si dovrebbe ammettere, secondo lo stesso autore, che l'enzima combinato con una molecola dell'inibitore o di H_2O_2, sia ancora capace di reagire e ciò, ricordando che i quattro gruppi eminici reagiscono indipendentemente l'uno dall'altro potrebbe accadere in due modi:

a) il Fe dell'emina, non essendo unito direttamente alla proteina e quindi possedendo due legami coordinati liberi, sarebbe capace di reagire con due molecole di substrato;

b) nel caso contrario, restando al Fe un solo legame libero, la combinazione dei gruppi eminici col substrato provocherebbe una interazione emina–emina causante la diminuzione della reattività dei gruppi rimanenti.

Queste due ipotesi sarebbero avvalorate dal noto cambiamento di valenza del Fe, per cui la forma molto attiva e labile dell'enzima potrebbe essere considerata una miscela in equilibrio dell'enzima ferrico con il suo complesso col perossido, e la forma stabile meno attiva un complesso « enzima ferrico, complesso enzima–perossido, enzima ferroso » in equilibrio fra di loro.

In un successivo lavoro (4) P. G e o r g e , confrontando l'azione della catalasi, di ioni ferrosi e ferrici, ecc., su H_2O_2, trova conferma alla sua ipotesi. Infatti, la reazione tra Fe ferroso e l'acqua ossigenata presenta una diminuzione di velocità in presenza di quantità crescenti del perossido, analogamente a quanto aveva riscontrato per la reazione con la catalasi, per quanto nel caso del Fe ferroso non si possa parlare di inattivazione del catalizzatore.

Tenendo presente che la catalasi, che contiene Fe, ha cinetica simile a quella del Fe ferroso, si suppone che si raggiunga un equilibrio di ossido–riduzione e che il comportamento cinetico dipenda dallo stato di ossidazione iniziale del catalizzatore e dalla concentrazione esistente nella miscela di equilibrio. E poichè con Fe ferrico, emina, ecc., non si riscontra al principio della reazione lo svolgimento rapido di ossigeno, lo stato iniziale di ossidazione del catalizzatore deve corrispondere a quello predominante nella miscela di equilibrio.

Secondo B. Chance (5), invece, la catalasi formerebbe con l'H_2O_2 un complesso attivo, responsabile della distruzione del perossido e della reazione perossidasica della catalasi con gli alcooli, con l'aldeide formica, ecc.; tale complesso primario si trasformerebbe in un complesso secondario più stabile, cui si deve la diminuzione dell'attività dell'enzima. Il complesso secondario deve quindi essere considerato quale inibitore del complesso primario.

Nei due complessi il Fe dell'ematina resta trivalente e, mentre nel primo di essi il metallo è unito al resto della molecola da legami ionici, nel secondo i legami sono covalenti.

La formazione del complesso secondario è stata sperimentalmente dimostrata usando un sistema costituito da notatina–glucosio–O_2 che fornisce continuamente H_2O_2.

Secondo Chance, la fase rapida e la fase lenta della reazione catalasica, riportata nella teoria di P. George, sono dovute al fatto di aver lavorato in assenza e in presenza del complesso secondario.

Tenendo presente che delle quattro ematine della catalasi soltanto una reagisce con H_2O_2 e che questa sposta l'ossidrile enzimatico, il meccanismo di distruzione del perossido viene rappresentato dallo schema:

$$\text{Cat}(OH)_4 + H_2O_2 \rightleftharpoons \text{Cat}(OH)_3(-OOH) - I$$

$$\text{Cat}OH_3(-OOH) - I \rightleftharpoons \text{Cat}(OH)_3(-OOH) - II$$

$$\text{Cat}(OH)_3(-OOH) - I + H_2O_2 \rightleftharpoons \text{Cat}(OH)_4 + H_2O + O_2$$

dove Cat sta ad indicare i quattro atomi di Fe della catalasi; $\text{Cat}(OH)_3(-OOH) - I$ rappresenta il complesso intermedio enzima–substrato di Michaelis e Menten, e $\text{Cat}(OH)_3(-OOH) - II$ rappresenta il complesso secondario inattivo.

Riportiamo infine le conclusioni di Lemberg e Foulkes (6) sulle recenti teorie della reazione catalasica.

Secondo questi autori nel corso della reazione enzimatica si avrebbe, d'accordo con P. George, il passaggio da una forma più attiva ad una meno attiva, poichè l'inattivazione dell'enzima, essendo molto rapida, non è attribuibile soltanto alla sua distruzione irreversibile.

Tale passaggio sarebbe inibito dal cianuro e non dall'Na N_3.

Secondo questi autori inoltre nella reazione catalasica non si avrebbe un cambiamento della valenza del Fe; ma interessato nella attività enzimatica sarebbe anche un gruppo della proteina capace di ridursi ed ossidarsi alternativamente.

Per la determinazione dell'attività ossidasica è stato adottato il metodo gasvolumetrico per la descrizione del quale si rimanda ai lavori precedenti (1).

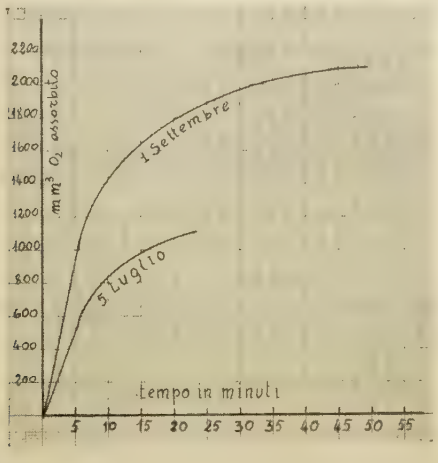
Tabella I

Tempo in 1′	5 luglio 1949 mmc. O_2 assorbito	1 settembre 1949 mmc. O_2 assorbito	Tempo in 1′	5 luglio 1949 mmc. O_2 assorbito	1 settembre 1949 mmc. O_2 assorbito
1	120	180	29		1920
2	220	350	30		1920
3	330	580	31		1940
4	410	740	32		1960
5	490	940	33		1970
6	560	1070	34		1990
7	620	1200	35		2000
8	700	1290	36		2025
9	760	1360	37		2025
10	810	1440	38		2025
11	880	1480	39		2040
12	900	1540	40		2060
13	930	1590	41		2070
14	950	1620	42		2070
15	990	1650	43		2080
16	1010	1670	44		2090
17	1030	1700	45		2100
18	1040	1750	46		2110
19	1050	1780	47		2110
20	1070	1800	48		2110
21	1080	1800	49		2110
22	1090	1810	50		2110
23	1100	1830	51		2110
24		1830	52		2115
25		1850	53		2115
26		1870	54		2120
27		1910	55		2120
28		1910			

Ogni determinazione veniva eseguita di minuto in minuto ed i valori ottenuti ci hanno consentito di costruire delle curve (grafico I e tabella I) che pur avendo un andamento esponenziale presentavano delle singolarità che lasciavano intravvedere la complessità del fenomeno.

Nello studio di tali curve è sembrato utile e giustificabile, a parte la diversa velocità di reazione ed altre eventuali differenze dovute al fatto che abbiamo lavorato con sospensioni di enzima non purificato, riportarci alla teoria elaborata da D. Kertesz per l'interpretazione matematica dell'ossidazione enzimatica del monofenolo (7).

Grafico I



Il meccanismo d'azione è, nel nostro caso, il seguente:

1) o–difenolo $\xrightarrow[\text{enzima}]{-2H}$ o–chinone ——— ulteriori prodotti di ossidazione

2) $$\text{o–chinone} + AH_2 = 2\ \text{o–fenoli}.$$

Dalle ricerche dello studioso di cui sopra, soltanto la reazione 1) è enzimatica mentre la 2), pur essendo sempre monomolecolare, dipende dalla concentrazione dell'o–chinone.

La velocità di ossidazione dell'acido ascorbico, e quindi il consumo di O_2 può essere espresso dalla seguente equazione:

1) $$\frac{dX}{dt} = \frac{d(O_2)}{dt} = K_1 x$$

in cui K_1 è una costante, X la quantità di AH_2 ossidata, O_2 la quantità di ossigeno assorbito nella vaschetta di reazione e x la quantità di o–chinone presente.

Poichè quest'ultimo composto subisce due trasformazioni (condensazione a composti indolici secondo Raper e ritorno a catecolo), la velocità di decomposizione dell'o-chinone è rappresentato da:

$$2) \qquad -\frac{dx}{dt} = K_1 x + K_2 x = (K_1 + K_2)\, x$$

essendo K_1 e K_2 le costanti delle reazioni sopra indicate.

Sempre secondo Kertesz la formazione dell'o-chinone è data da:

$$3) \qquad \frac{dx}{dt} = K z$$

ove z è la quantità di catecolo presente.

Quindi in totale la concentrazione dell'o-chinone al tempo t è data dalla:

$$4) \qquad \pm \frac{dx}{dt} = K z - (K_1 + K_2)\, x$$

Tralasciando per brevità i passaggi successivi e tenendo presente che z può essere espresso in funzione di x, la (4) diventa:

$$5) \qquad \pm \frac{dx}{dt} = K_1 \left(\frac{K_1}{K}\right)^2 x^2 - (K_1 + K_2)\, x = \frac{K_1^2}{K} x^2 - (K_1 + K_2)\, x$$

Il segno sarà negativo o positivo a seconda della grandezza dei due termini del secondo membro, il che significa che il segno varierà con la concentrazione K dell'enzima.

Nel caso in cui K sia molto basso risulterà.

$$6) \qquad \frac{K_1^2}{K} x^2 > (K_1 + K_2)\, x$$

per cui $\frac{dx}{dt}$ della 5) è maggiore di zero.

Nel nostro caso, trattandosi di sospensioni enzimatiche molto diluite (tessuti vegetali triturati e sospesi in soluzioni tampone), la 5) si può scrivere:

$$7) \qquad \frac{dx}{dt} = \frac{K_1^2}{K} x^2 - (K_1 + K_2)\, x = b x^2 - a x$$

che integrata dà:

$$8) \qquad \int \frac{dx}{a x - b x^2} = -\int dt$$

$$9) \qquad \ln x - \ln\left(\frac{a}{b} - x\right) - \ln x_0 + \ln\left(\frac{a}{b} - x_0\right) = -a t$$

e:

$$10) \qquad \frac{1}{x} = \frac{b}{a} + \frac{b}{a}\left(\frac{\frac{a}{b} - x_0}{x_0}\right) e^{at} = \frac{b}{a} + \frac{b}{a} A e^{at}$$

in cui $A = \dfrac{\frac{a}{b} - x_0}{x_0}$.

Sostituendo in 1) si ottiene:

$$11) \qquad \frac{dX}{dt} = \frac{d(O_2)}{dt} = K_2 \frac{1}{\frac{b}{a} + \frac{b}{a} A e^{at}}$$

che integrata ci dà la quantità di AH_2 ossidato ovverosia la quantità di O_2 assorbito:

$$12) \qquad X = (O_2) = K_1 \frac{1}{b} \ln \frac{1 + A}{e^{-at} + A}.$$

Parte sperimentale

Abbiamo scelto per questo studio l'*Arachis hypogaea*, perchè, a differenza di altre specie da noi già esaminate, presenta contemporaneamente l'attività catalasica ed ossidasica.

La determinazione delle attività di tali enzimi vennero effettuate sulle foglie e sui semi per un periodo di tempo compreso tra la fine di giugno ed i primi di novembre, epoca della maturazione completa del seme.

I valori ottenuti vengono riportati nelle tabelle II e III.

Il grafico II illustra l'andamento delle attività ossidasica e catalasica delle foglie nelle prime ore del mattino; il grafico III illustra l'andamento delle due attività nelle ore pomeridiane; nel grafico IV vengono riportati i valori delle determinazioni delle due attività nei semi, eseguite al mattino e al pomeriggio.

Come già abbiamo accennato all'inizio di questa nota, è da tener presente, per l'interpretazione dei dati riportati, che la catalasi e la catecolossidasi catalizzando le reazioni biochimiche si inattivano: quindi ad un valore minimo trovato, corrisponde un massimo di attività enzimatica nella cellula e viceversa.

Dall'esame del grafico II si rileva facilmente l'inversa proporzionalità esistente tra attività ossidasica e attività catalasica, come già era stato notato in altre ricerche eseguite presso questo laboratorio.

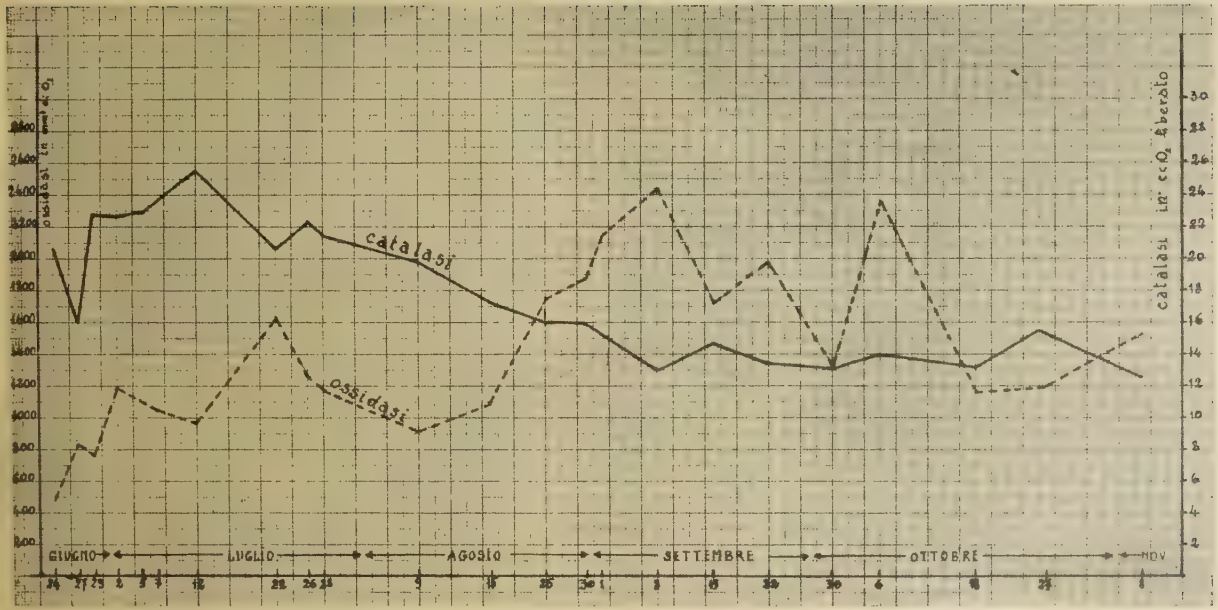
Tabella II

Data	Ossidasi foglie in mmc. di O_2 assorbito		Catalasi foglie in cc. di O_2 svolto		Osservazioni
	mattino	pomeriggio	mattino	pomeriggio	
24– 6–1949	480	920	20,6	15,8	inizio fioritura
27– 6–1949	830	1030	16,1	22,6	
29– 6–1949	770	1050	22,8	22,1	
2– 7–1949	1190	—	22,7	21,6	
5– 7–1949	1100	1120	22,9	23,4	
7– 7–1949	1050	1830	23,6	23,3	
12– 7–1949	970	1070	25,5	24,9	
15– 7–1949	—	950	—	25	continuazione fioritura
22– 7–1949	1620	1290	20,6	22,1	
26– 7–1949	1260	1030	22,3	22,9	
28– 7–1949	1170	1590	21,4	22	
9– 8–1949	920	1530	19,8	18,7	
18– 8–1949	1090	—	17,3	—	
19– 8–1949	1690	1440	17,8	17,1	
Medie . .	1830	1240	20,9	21,8	
25– 8–1949	1740	1940	16,1	17,2	allegagione
30– 8–1949	1870	1030	15,9	—	
1– 9–1949	2140	1300	15,2	—	inizio fruttificazione
8– 9–1949	2440	2220	13,0	12,7	
15– 9–1949	1720	1250	14,7	13,9	
22– 9–1949	1980	1650	13,5	13,1	
30– 9–1949	1330	1390	13	15,4	
6–10–1949	2360	1440	13,9	14,6	
18–10–1949	1160	1310	13,2	12,1	
27–10–1949	1200	1330	15,5	13,2	
8–11–1949	1520	1690	12,5	12	
Medie . .	1760	1500	14,2	13,8	

Tabella III

Data	Ossidasi semi in mmc. di O_2 assorbito		Catalasi semi in cc. di O_2 svolto	
	mattina	pomeriggio	mattina	pomeriggio
2– 9–1949	1590	1630	14,9	15,4
9– 9–1949	2410	1800	10,1	14,2
16– 9–1949	1480	1210	13,8	13,2
30– 9–1949	940	1330	—	—
7–10–1949	900	1050	14,6	14,6
20–10–1949	650	—	13,2	—
24–10–1949	—	180	12,4	13,4
8–11–1949	130	150	12,5	13,5
Medie . . .	1157	1050	13	14

Grafico II


catalasi
ossidasi
GIUGNO
LUGLIO
AGOSTO
SETTEMBRE
OTTOBRE
NOV

Il valore della determinazione, eseguita il 25 agosto 1949, segna l'inversione dell'andamento delle due attività; infatti mentre nel periodo 24 giugno-25 agosto ad una attività ossidasica decrescente corrisponde un'attività catalasica crescente, dal 25 agosto, inizio dell'allegagione dei frutti, si ha un comportamento completamente opposto delle due attività.

Per l'interpretazione del differente comportamento delle attività enzimatiche nei due periodi, abbiamo tenuto presente che nei giorni precedenti l'allegagione dei frutti si notano i massimi dell'attività fotosintetica, come è stato recentemente dimostrato in un altro lavoro (1).

Poichè dalle ricerche inerenti alla fotosintesi su *Solanum lycopersicum*, *Vitis vinifera*, *Vicia faba*, sopra accennate (1) è stato costantemente riscontrato un evidente parallelismo tra fotosintesi e respirazione nel senso che ad incrementi dell'una corrispondono incrementi dell'altra e poichè dai dati in corso di stampa si rileva per l'*Arachis hypogaea*, nel periodo 9 .luglio–19 agosto un'elevata attività respiratoria, è logico supporre che lo stesso periodo sia caratterizzato da una fotosintesi maggiore.

Dai dati ottenuti nella presente ricerca risulta che anche l'attività ossidasica, nel periodo precedente l'allegagione dei frutti, mostra un andamento parallelo a quello della respirazione e della fotosintesi. Appare quindi evidente l'intervento dei due sistemi enzimatici considerati nei processi respiratori e fotosintetici della pianta.

Le stesse considerazioni valgono per il grafico III, sebbene l'inversione delle due attività nel secondo periodo sia qui meno evidente.

Ciò si può spiegare tenendo presente che nel pomeriggio, essendo l'attività respiratoria e quindi fotosintetica più elevata, l'attività enzimatica deve mantenersi elevata non ostante l'avanzato processo della maturazione dei frutti.

I sistemi enzimatici dei semi in via di maturazione hanno un comportamento del tutto differente da quello mostrato dagli stessi enzimi nei tessuti verdi della pianta.

Ciò era da prevedersi in quanto i semi sono organismi eterotrofi distinguendosi dalle piante per il loro metabolismo più simile a quello animale.

I dati da noi ottenuti (tabella III e grafico IV) confermano infatti tali previsioni.

Durante il periodo sperimentale abbiamo notato che la velocità di reazione delle determinazioni delle attività enzimatiche variava sensibilmente.

GRAFICO III

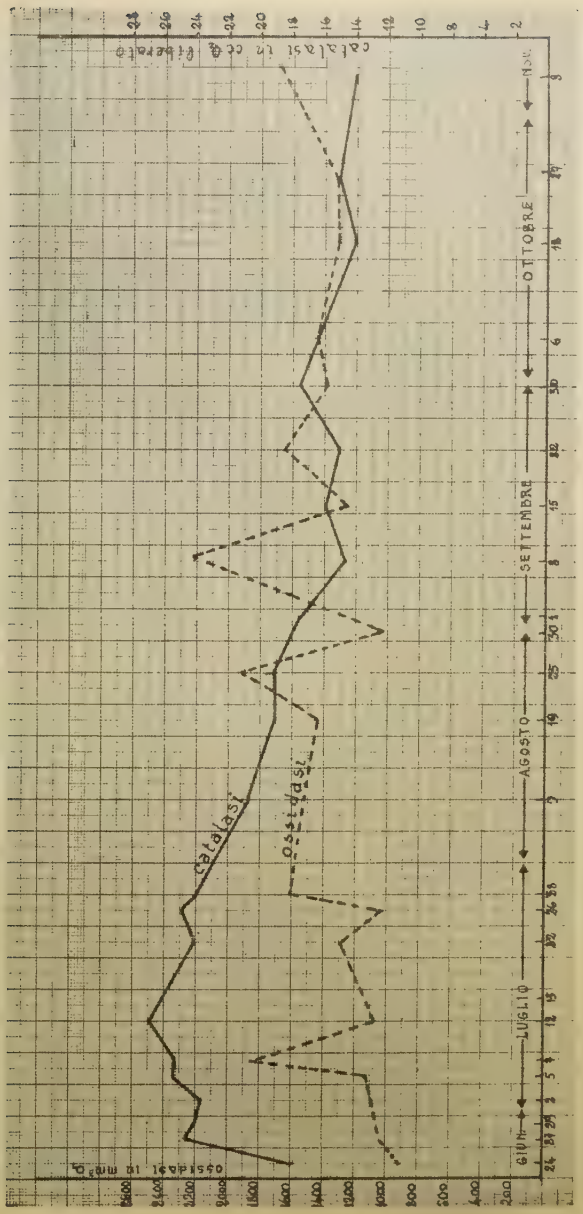


GRAFICO IV

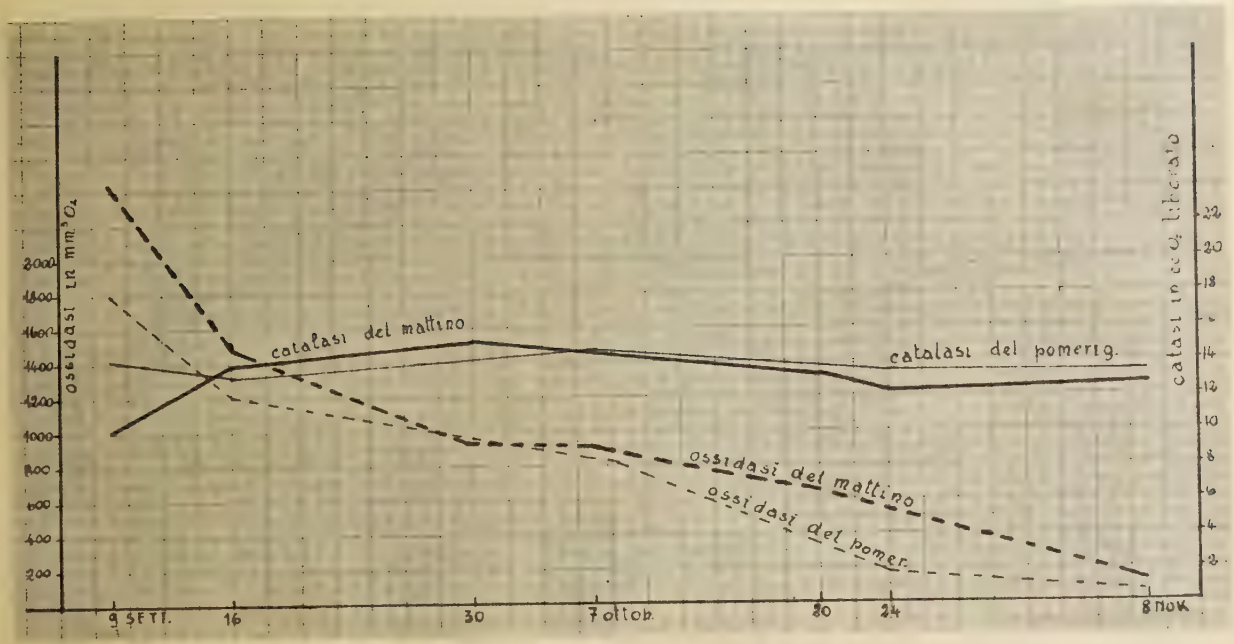

ossidasi in mm³ O₂
catalasi in cc O₂ liberati
catalasi del mattino
catalasi del pomerig.
ossidasi del mattino
ossidasi del pomer.
9 SETT.
16
30
7 ottob.
20
24
8 nov.

Tabella IV

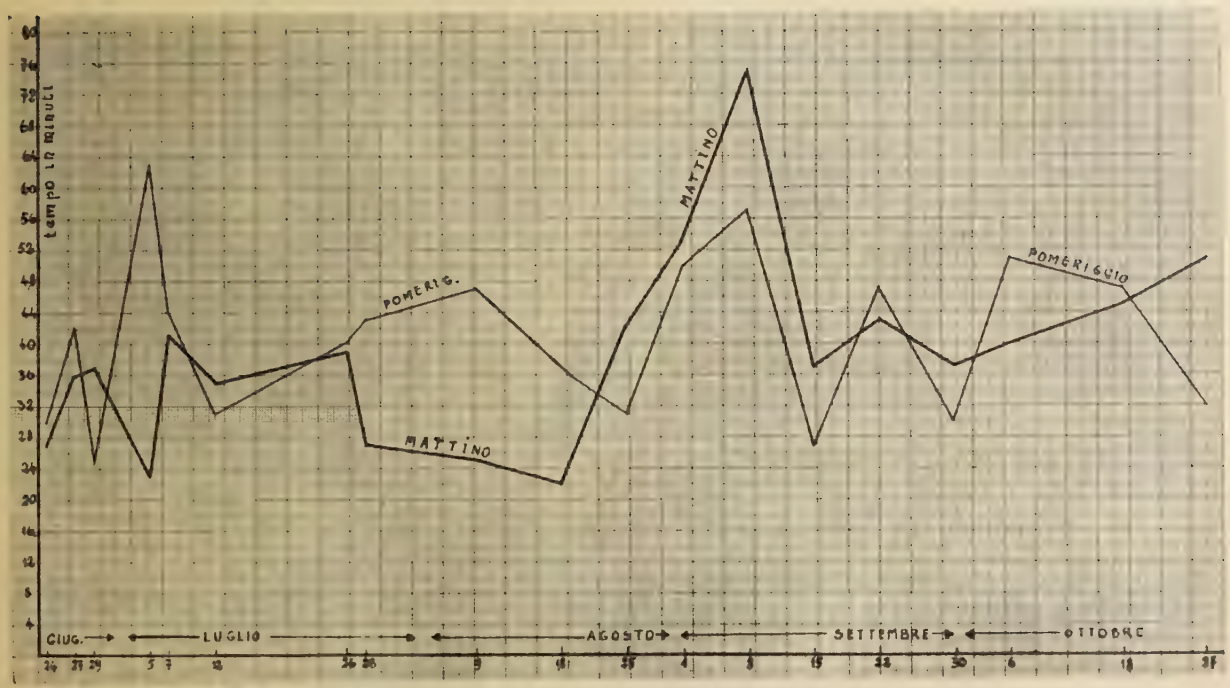
Data	Durata reazione ossidasi in minuti		Durata reazione catalasi in minuti	
	mattino	pomeriggio	mattino	pomeriggio
24- 6-1949	27	30	32	28
27- 6-1949	36	42	30	13
29- 6-1949	37	25	8	34
2- 7-1949	—	—	7	7
5- 7-1949	23	63	32	20
7- 7-1949	41	44	12	12
12- 7-1949	35	31	11	9
22- 7-1949	—	—	15	10
26- 7-1949	39	40	8	13
28- 7-1949	27	43	38	13
9- 8-1949	25	47	5	34
18- 8-1949	22	36	—	—
25- 8-1949	42	31	8	5
1- 9-1949	53	50	—	—
8- 9-1949	75	57	7	8
15- 9-1949	37	27	8	24
22- 9-1949	43	47	8	7
30- 9-1949	37	30	7	30
6-10-1949	40	51	11	11
18-10-1949	45	47	10	22
27-10-1949	51	32	10	12

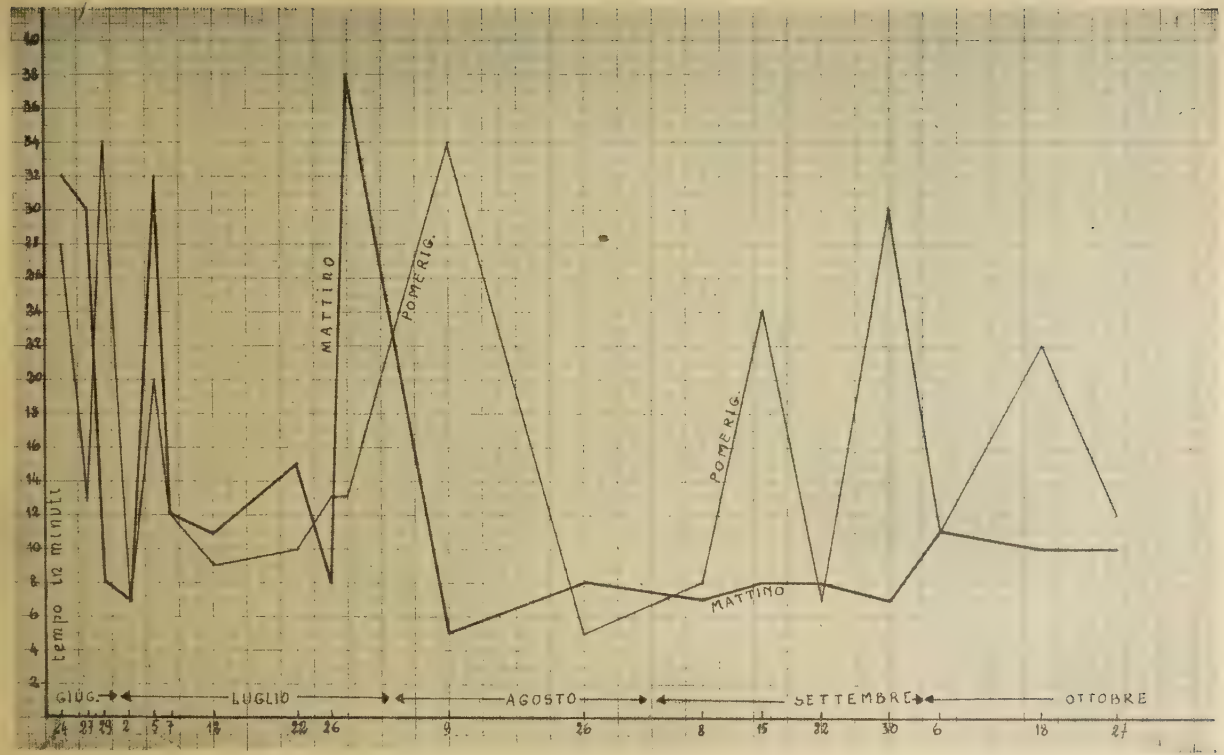
Mentre nel caso delle ossidasi (grafico V) non esiste una netta differenza di velocità tra le determinazioni eseguite al mattino e quelle eseguite nel pomeriggio, per le catalasi (grafico VI) la velocità di reazione risulta nettamente superiore nelle determinazioni eseguite al mattino, specialmente nel periodo susseguente l'allegagione dei frutti.

È noto che il complesso attivo (catalasi–H_2O_2) si decompone lentamente per reazione spontanea oppure con velocità superiore se in presenza di accettori di ossigeno. Le alte velocità da noi riscontrate nelle determinazioni del mattino possono quindi spiegarsi con l'accumulo, durante la notte, di sostanze ossidabili, capaci di funzionare da accettori nella reazione perossidasica della catalasi.

Ringraziamo vivamente il prof. L. Marimpietri ed il dott. L. Tombesi per esserci stati larghi di consigli e di aiuto nella conduzione del presente lavoro.

Grafico V


tempo in minuti
POMERIG.
MATTINO
MATTINO
POMERIGGIO
GIUG.
LUGLIO
AGOSTO
SETTEMBRE
OTTOBRE


tempo in minuti
MATTINO
POMERIG.
POMERIG.
MATTINO
GIUG.
LUGLIO
AGOSTO
SETTEMBRE
OTTOBRE

RIASSUNTO

È stato seguìto l'andamento delle attività enzimatiche catalasica ed ossidasica dell'*Arachis hypogaea*, dalla fioritura alla maturazione dei frutti.

È stata osservata un'inversione delle due attività enzimatiche inversamente proporzionali, coincidente con l'allegazione dei frutti.

Le due attività sono state inoltre messe in relazione con i processi respiratori e fotosintetici.

La diversa velocità di reazione, notata durante le determinazioni dell'attività catalasica nel mattino e nel pomeriggio, è stata spiegata con l'accumulo, durante la notte, di sostanze funzionanti da accettori di ossigeno.

SUMMARY

ON SOME ENZYMATIC SYSTEMS OF *ARACHIS HYPOGAEA*

by Silvio Fortini and Maria Elisa Venezian

The course of the enzymatic catalase and oxidase activities in *Arachis hypogaea* was followed from flowering to maturation of the pod.

An inversion of the two inversely proportional enzymatic activities has been observed, coincident with the setting of the pod.

The two activities have also been set in relation to the respiratory and photosynthetic processes.

The diverse velocity of reaction noted during the determinations of catalase activity in the morning and afternoon, has been explained by the accumulation, during the night, of oxygen-acceptor substances.

BIBLIOGRAFIA

(1) Tombesi, L. *Annali della Sperimentazione Agraria*, 1950, n. s., vol. IV.
(2) Tombesi, L. *Annali della Sperimentazione Agraria*, 1949, n. s., vol. III, n. 5.
(3) George, P. *Nature*, 1947, 160, 41.
(4) George, P. *Bioch. J.*, 1948, 43, 287.
(5) Chance, B. *Nature*, 1948, 161, 914.
(6) Lemberg and Foulkes. *Enzymologia*, 1949, XIII, 302.
(7) Kertesz, D. *Enzymologia*, 1948, XII, 254.

Ricevuto il 17 marzo 1950.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Francesco Scurti)
TORINO

Ettore Bottini

IL COLLOIDISMO DEI TERRENI NEI SUOI RIFLESSI CON LA TECNICA DELLE CONCIMAZIONI

Ricerche eseguite sui concimi azotati

Quando i metodi della chimica colloidale si estesero allo studio del terreno agrario si rilevò, in questo, la presenza di una frazione colloidale particolarmente attiva.

Essa si forma nell'evoluzione climatica delle rocce e dei minerali e nelle decomposizioni chimiche e biochimiche dei residui vegetali ed animali, che giungono sul terreno ed è una miscela complessa di silicati argillosi più o meno idratati, di silice e acidi polisilicici, di idrossidi metallici e di sostanza organica più o meno umificata, cui trovansi frammisti i prodotti della coagulazione reciproca dei colloidi di carica opposta. Nei terreni agrari dei nostri climi prevalgono i colloidi argillosi e umici con carattere elettro-negativo. Solo in alcuni terreni anormali e in determinati strati può manifestarsi un accumulo di idrossidi metallici colloidali con carattere elettropositivo.

L'influenza di questa frazione colloidale si estende nel terreno ad un campo sempre più vasto, abbracciando tutto quel complesso di proprietà idriche, meccaniche, chimiche e biologiche che determinano il grado di mobilità dell'acqua e dei sali. Purtroppo lo studio di queste influenze è tutt'altro che semplice, perchè, come è noto, i colloidi sono spesso in uno stato di equilibrio instabile e possono rapidamente assumere diverse forme disperse e flocculate.

Per una più chiara comprensione di quanto sopra giova ricordare che, secondo G. Wiegner, la micella colloidale risulta:

1) di un nucleo o ultramicron, che può essere o un monome compatto o un polione poroso internamente disperso; nei colloidi del terreno questo nucleo risulta costituito da silicati, da acidi silicici, da silice, da idrossidi metallici, e anche da composti organici;

2) di uno strato ionico interno molto aderente al nucleo, che dà il segno della sua carica al nucleo stesso;

3) di uno strato ionico esterno debolmente unito al nucleo, la cui carica, di segno contrario allo strato ionico sottostante, tende a rendere la micella elettricamente neutra.

Nel terreno agrario i colloidi argilla e humus sono delle micelle cariche negativamente circondate da una nuvola di cationi; in modo perfettamente opposto si presentano gli idrossidi metallici colloidali.

Questi sistemi funzionano come dei condensatori e possiedono perciò una determinata capacità e un determinato potenziale elettrico che, supposte le particelle di forma sferica, è dato dalla formula

$$P = \frac{N \times d}{D \times r^2}$$

dove:

P = potenziale elettrocinetico
N = numero delle unità di carica elettrica delle particelle
d = distanza media degli strati ionici di carica opposta
D = costante dielettrica del mezzo disperdente
r = raggio delle particelle.

Quanto maggiore è tale potenziale, tanto più stabile è il sistema. Una sua diminuzione si verifica, ad esempio, in seguito ad un fenomeno fisico di disidratazione degli ioni (per essiccamento o per congelamento), per cui diminuisce la distanza degli strati ionici e si abbassa perciò il potenziale elettrocinetico delle particelle. Ciò conduce alla flocculazione del sistema e il terreno di arricchisce sempre più di geli colloidali. È per questa ragione che la silice idrata, uno dei più abbondanti colloidi del terreno, per lentissima evoluzione assume con l'andar del tempo una struttura più o meno visibilmente cristallina.

Una diminuzione del potenziale elettrocinetico e quindi una flocculazione del sistema si verificano anche per fenomeni chimico–fisici e precisamente:

1) o per scambio degli ioni dello strato esterno con altri di valenza maggiore per cui diminuisce il numero N delle cariche elettriche delle particelle: e in questo caso entrano in gioco, oltre alle forze di attrazione superficiale, anche le dimensioni dei capillari e degli ioni diffondenti;

2) o per contatto di colloidi di carica opposta.

Un aumento di potenziale e quindi un aumento della dispersione ha invece luogo mediante un aumento di N o di d, cioè o scambiando gli ioni della corteccia esterna con altri di valenza minore, o sostituendo un ione debolmente idratato con uno più fortemente idratato.

A questo proposito gli ioni ossidrile sono dotati di una energica azione disperdente, che può essere annullata solo in presenza di certi cationi.

Così gli ioni OH' dell'idrossido di calcio manifestano un'azione disperdente solo se l'idrossido è presente in piccola quantità. Al di sopra di un certo limite l'azione flocculante del calcio prevale sull'azione disperdente degli ossidrili. Al contrario gli idrossidi di sodio e di potassio agiscono in genere disperdendo i colloidi e solo a concentrazioni molto elevate l'azione flocculante del sodio e del potassio può superare l'azione disperdente degli ossidrili.

Data questa particolare suscettibilità dei sistemi colloidali a modificare il loro stato quando siano in presenza di sali elettroliti è logico supporre che altrettanto debba verificarsi per i colloidi del terreno di fronte ai sali minerali che ad esso si aggiungono allo scopo di aumentarne le fertilità e specie se le somministrazioni degli stessi sali sono ripetute e abbondanti.

Ciò porta ad intravedere nella funzione delle sostanze fertilizzanti, oltre al lato prettamente nutritivo, anche delle influenze sulla struttura del terreno agrario.

Sinora questo lato della questione è stato poco studiato: uno stesso concime s'impiega per terreni di natura diversissima senza preoccuparsi dei riflessi che può avere sulla loro struttura, col risultato che talora l'azione concimante non si manifesta con la stessa intensità ed i risultati non corrispondono all'aspettativa.

La spiegazione di questi fenomeni può allora aversi solo studiando le modificazioni indotte nella frazione colloidale del terreno.

Questo lavoro, che per ora è stato condotto sui fertilizzanti azotati, tende appunto a delineare i fenomeni in questione e a delimitarne la portata.

Per mettersi da un punto di vista essenzialmente pratico le variazioni del colloidismo del terreno per effetto di questi sali, furono studiate attraverso l'esame:

1) della permeabilità idrica;
2) del potere di scambio;
3) del potere cuscinetto.

Giova in proposito, per una migliore interpretazione dei fatti osservati, soffermarci brevemente su queste proprietà del colloidismo dal punto di vista pedologico.

Come è noto, la permeabilità idrica è la proprietà del terreno di lasciarsi penetrare dall'acqua. Però bisogna distinguere la percolazione dalla filtrazione. Dicesi percolazione il fluire dell'acqua attraverso il terreno asciutto e può essere espressa col « coefficiente di assorbimento » cioè con la quantità di acqua assorbita dal terreno per unità di superficie nell'unità di tempo.

Per filtrazione s'intende invece il fluire dell'acqua attraverso il terreno quando i suoi pori siano già completamente saturi di acqua. In questo caso vale la legge di Darcy* espressa dall'uguaglianza:

$$Q = \frac{M \cdot h}{n \cdot l \cdot u} \cdot \left(\frac{P_o}{l - p}\right)^2 \cdot F$$

Q = quantità di liquido che passa in cm^2/se
n = viscosità del liquido in cm^{-1} g. sec.
h = differenza di pressione in cm. di colonna d'acqua a 4° C. cioè gr/cm^2 al fondo di una colonna di terreno alta 1 cm.
F = sezione della colonna di terreno in cm^2
p = volume totale dei pori
P_o = volume dei pori a pressione zero
u = superficie specifica

In questo campo sono rimasti classici gli studi dell'Atterberg sulla penetrabilità delle sabbie. Essi dimostrarono che il limite fra le sabbie conservatrici di acqua (cioè poco permeabili) e quelle non conservatrici è rappresentato dai granuli con diam. di mm. 0,2. Oltre alla finezza della granulazione ha anche importanza la disposizione dei granuli.

Nelle sabbie in cui prevale la disposizione verticale la permeabilità è maggiore che nelle sabbie dove prevale la disposizione obliqua (supposte le particelle di uguale diametro) e in questi maggiore che nelle sabbie a granuli di diverse dimensioni.

Le cose si complicano nei terreni ordinari per la presenza dei colloidi idrofili argilla e humus per cui il terreno agrario, lungi dal risultare costituito da granuli singoli con superfici rigide e inattive, appare normalmente come un sistema che contiene tutta la gamma dei gradi di dispersione e per il quale assumono significato ed importanza preponderante i costituenti argillosi. Questi, infiltrandosi tra le particelle più grossolane, concorrono a determinare la grandezza dei pori e le dimensioni dei capillari.

Se i terreni non sono molto argillosi la discesa dell'acqua si trova ritardata in principio, ma in seguito la differenza diminuisce lentamente

* Zunker, F. E. *Pflanzern. und Bodenkunde*, 1932, A, 25, 1.

sotto l'azione della forza assorbente. Sul fenomeno influisce la natura dei sali presenti in soluzione: i sali di sodio possono rendere più o meno impermeabile il terreno argilloso; i sali di calcio, di magnesio e di potassio e le sostanze acide ne possono invece aumentare la permeabilità*.

Anche le sostanze umiche, se presenti in forte percentuale, possono ostacolare la penetrazione dell'acqua nel terreno, però in grado minore dei colloidi argillosi.

Per quanto riguarda il potere di scambio, data la particolare costituzione della micella colloidale, lo scambio degli ioni può interessare:

1) la sola nuvola esterna (extra-micellare) se si tratta di un monome compatto;

2) lo strato esterno e quello interno (extra-e intra-micellare) se si tratta di un ultramicron internamente disperso, cioè di un polione che possiede una superficie interna attiva.

In ogni caso gli ioni che entrano nel complesso sono equivalenti, nei riguardi della carica elettrica, agli ioni che escono.

Il movimento degli ioni è regolato dal loro grado di idratazione, dal loro diametro e dalla loro valenza.

L'adsorbimento nella micella è maggiore per gli ioni meno idratati, per quelli di maggior diametro allo stato anidro (purchè si tratti di adsorbimento extra-micellare) e per quelli che possiedono una maggiore valenza. Le condizioni opposte favoriscono, come è logico, l'eliminazione degli ioni dal sistema colloidale.

Ecco per alcuni cationi monovalenti e bivalenti il diametro, allo stato anidro e idratato, e il numero di idratazione (espresso come mol. acqua/ione).

Tabella I

Proprietà	Li'	Na'	K'	Rb'	Cs'	Mg''	Ca''	Sr''	Ba''
Diametro degli ioni anidri Å	1,56	1,98	2,66	2,98	3,30	1,56	2,12	2,54	2,86
Diametro ioni idrati Å . . .	7,3	5,6	3,8	3,6	3,6	10,8	9,6	9,6	8,8
Numero di idrataz. molecole H_2O/ione	10	4,3	0,9	0,5	0,2	33	22	21	17
Peso equivalente	6,94	23	39,5	85,1	132,8	12,16	20,04	43,8	68,7

* Ganossis, B. G., *Ann. Agron.*, 1931, 686.

I cationi si possono pertanto ordinare nelle seguenti serie, in cui si passa dagli ioni meno adsorbiti ai più adsorbiti:

Cationi monovalenti: $Cs' < Rb' < K' < Na' < Li'$
Cationi bivalenti: $Mg'' < Ca'' < Sr'' < Ba''$

E per gli anioni abbiamo la serie:

$$SO_4'' < PO_4''' < Cl' < NO_3' < Br' < J < SCN'$$

È da notare che la contemporanea presenza di certi cationi e di certi anioni può notevolmente influenzare il comportamento dei singoli ioni nei confronti dei colloidi: così ad es. la presenza dell'anione PO_4''' (poco idratato) può produrre addirittura un capovolgimento nell'adsorbimento dei cationi.

Esistono molte formule per il calcolo delle quantità degli ioni scambiati. Una delle prime formule proposte è espressa dalla cosidetta isoterma di adsorbimento di F r e u n d l i c h*, che in seguito fu variamente modificata. W i e g n e r e J e n n y** proposero la seguente espressione che unisce ad una notevole semplicità il pregio di una sensibile aderenza alla realtà:

$$y = k\left(\frac{c}{a - c}\right)\frac{1}{p} \text{ dove}$$

y = quantità di cationi scambiati su 1 g.
c = conc. dei cationi espressa in mg. equiv. p. litro al punto di equilibrio
a = idem all'inizio
k = costante dipendente dall'adsorbente e dalla temperatura (in genere circa 0,5)
p = costante dipendente dall'adsorbendo, che assume i seguenti valori:

per K' , NH_4' , Mg'' , Mn'' = 1,5 — 1,7
per Zn'' = circa 2
per Ni'' = > 2
per Pb'' = circa 3
per Cu'' , Ag' , Hg'' = circa 4

Infine i complessi colloidali manifestano un p o t e r e c u s c i n e t t o verso gli acidi e verso le basi.

Infatti i colloidi sono in grado di sottrarre dalle soluzioni acide una certa quantità di ioni idrogeno fino a raggiungere uno stato di saturazione verso questi ioni, attenuando così l'acidità delle soluzioni stesse.

---

* Freundlich, H. *Zeit. phys. Chem.*, 1907, 57, p. 385.
**Wiegner, G., and Jenny. *Proc. Intern. Congr. Soil Sci. Commission*, Washington, 1927, II, p. 40.

A contatto di una base gli stessi colloidi scambiano gli ioni idrogeno col catione della base: gli ioni H sono assorbiti da altrettanti ioni OH' formando acqua e così si abbassa l'alcalinità del liquido.

Fra i colloidi del terreno sembrano prevalere per la loro azione tamponante i complessi umici e quelli silico–alluminici.

Alcuni attribuiscono una maggiore azione a questi ultimi, perchè oltre ad esercitare una vera e propria azione tamponante, vengono intaccati chimicamente dagli ioni idrogeno con formazione dei corrispondenti sali di alluminio.

Il potere cuscinetto si attenua quando i colloidi passano dallo stato di solo a quello di gelo.

Questa proprietà si può esprimere, con Goy, Muller e Roos, in base ai mmg. di acido (o di base) necessari per aumentare (o per diminuire) la concentrazione idrogenionica di un litro di liquido.

Ciò premesso passo a descrivere le ricerche eseguite, avvertendo che:

1) la percolazione fu caratterizzata in base al coefficiente di assorbimento;

2) la filtrazione fu caratterizzata in base alla quantità di liquido filtrato per minuto secondo;

3) il potere di adsorbimento per lo ione NH_4 fu calcolato in base alla percentuale di NH_4 sottratta alla soluzione;

4) il potere tampone fu calcolato in base alla variazione della concentrazione idrogenionica.

Parte sperimentale

Come materiale di studio furono scelti alcuni terreni pervenuti alla Stazione per l'analisi fisiologica col metodo di Mitscherlich e dei quali pertanto si erano già dovute esaminare alcune delle principali caratteristiche chimiche. L'esame generale fu completato con l'analisi fisica, mandata ad effetto prima col levigatore di Kopecky e poi col metodo alla pipetta di Andreasen per le frazioni finissime e colloidali.

Il metodo A n d r e a s e n * si basa sul principio di lasciare sedimentare un certo peso di terreno in una data quantità di acqua in apposito cilindro.

Dopo un determinato tempo t cade una particella di raggio r, che al principio della sedimentazione si trovava nello strato superiore, ad una determinata profondità distinta come altezza h.

Ordinariamente le particelle più grossolane non si trovano già più all'altezza h ma sono più profondamente sedimentate, quando tutte le particelle più fini si trovano ancora all'altezza h nella loro primitiva concentrazione. Aspirando ora da un sottile strato orizzontale all'altezza h un determinato volume della sospensione e determinando per evaporazione il contenuto di sostanza solida si ottiene direttamente la percentuale delle frazioni più fini.

Ripetendo alla stessa altezza la presa dei campioni dopo diversi tempi si ottiene la composizione granulometrica del terreno.

Il metodo bene si presta per l'analisi delle frazioni fini e finissime mentre non è più esatto per la particelle sopra 0,2 mm. di diametro.

I tempi di caduta per le diverse granulazioni riferite ad un'altezza di caduta di 10 cm. sono:

Tabella II

Diametro mm.	Velocità di caduta cm/sec	Tempo di caduta per un'altezza di 10 cm.
0,0002	0,0000036	780^h
0,0005	0,000022	$124^h30'$
0,001	0,000089	$31^h15'$
0,002	0,00036	$7^h43'$
0,005	0,0022	75′
0,010	0,0089	18′45″
0,020	0,036	4′38″
0,050	0,223	45″
0,10	0,778	13″
0,20	2,030	5″

La percentuale delle diverse granulazioni è data dalla formula:

$$p = \frac{a \cdot V \cdot 100}{v \cdot E} \text{ dove}$$

a = peso in g. della sostanza solida nel liquido prelevato
V = volume totale della sospensione in cc.
v = volume della pipetta in cc.
E = peso del terreno.

Prima di procedere a queste determinazioni si trattarono i terreni, in quanto calcarei, con ossalato di sodio n/100 per suddividere i grumi** e poi bolliti per due ore con acqua.

*Andreasen, A. H. M., *Kolloidch. Bh.*, 1928, 27, 405.
**Lemmermann, O., Untersuchung des Bodens. Berlin, Verlag Chemie, 1932, 65. II, 17.

Con questo procedimento fu possibile suddividere il terreno nelle seguenti frazioni:

mm. 0,1 — 2 mm. 0,05 — 0,1	}	sabbia
mm. 0,01 — 0,05 mm. 0,05 — 0,005	}	limo
mm. 0,005 — 0,002 mm. 0,002 — 0,001	}	argilla greggia
infer. mm. 0,001		argilla colloidale

La tabella, che segue, riporta le caratteristiche fisiche e chimiche dei terreni in esame.

Come si vede si tratta di terreni sabbiosi-limosi tutti discretamente calcarei (contenuto in $CaCO_3$ 8–15 %) e anzi il n. 11 decisamente calcareo (40 %). Presentano tutti un contenuto medio di humus ad eccezione del n. 6 decisamente umico. Fra essi prevalgono i terreni a reazione neutra; solo i nn. 1–8–12 hanno una reazione decisamente alcalina mentre il n. 10 è subacido. Queste risultanze permettono di concludere che nella maggioranza dei casi e, specie nei terreni n. 1–2 6–7–9–11, il calcare si presenta allo stato grossolano e in gran parte inattivo.

Le frazioni sabbiose grossolane prevalgono nei nn. 7–9 10 per circa il 60 %; negli altri casi oscillano intorno al 30 %; in un solo caso, n. 12, si abbassano al 13 %.

In misura opposta variano naturalmente le frazioni limose e argillose.

Inoltre siccome per il calcolo del coefficiente di absorbimento occorreva conoscere il volume degli spazi vuoti, e la superficie totale che sviluppavano le particelle di un dato peso di terreno, si operò anche la determinazione del peso specifico apparente Pa e del peso specifico reale Pr del terreno, e da questi dati si calcolò il volume degli spazi vuoti con la formula:

$$V = 100 \left(1 - \frac{Pa}{Pr} \right)$$

Per differenza si ottenne il volume occupato dalle particelle di terreno e si potè quindi calcolare la superficie da loro sviluppata.

Tabella III

Composizione fisica e chimica dei terreni

Numero	Provenienza altitudine	Qualità del terreno	Analisi fisica						Analisi chimica		
			Sabbia gross. %	Sabbia fine %	Sabbia finiss. %	Limo %	Argilla non colloidale %	Argilla colloidale %	Calcare °/oo	Humus °/oo	pH
1	Malfi–S. Rocco m. 521 . .	Seminativo	27,5	13,0	23,0	35,9	0,25	0,35	79,0	20,8	7,6
2	Sannazzaro di Burgondi (Pavia) pianura	Seminativo irriguo	30,0	12,5	20,5	36,0	0,65	0,35	177,3	34,8	6,8
3	Lucento pianura	Colt. ort.	38,0	12,5	20,0	28,6	0,65	0,25	142,7	41,3	7,2
4	Lucento pianura	Seminativo	27,0	14,5	18,5	39,0	0,70	0,30	112,8	32,5	7,2
5	Lucento pianura	Seminativo	35,5	13,3	18,7	31,6	0,65	0,30	96,8	43,5	7,2
6	Monasterolo di Savigliano pianura	Prato stabile	31,0	13,0	19,0	36,3	0,55	0,15	99,8	72,1	7,0
7	Pestrino (Verona) pianura	Seminativo arbor. irriguo	62,0	6,3	8,8	22,3	0,35	0,25	96,4	47,8	6,8
8	Oson di Nogara (Verona) pianura	Seminativo	27,0	12,5	23,0	36,9	0,23	0,37	123,5	31,7	7,6
9	Vo' di Isola della Scala (Verona) pianura . . .	Seminativo irriguo	67,5	7,2	7,3	7,6	0,10	0,30	82,4	36,2	6,8
10	Veronella di Cologna Veneta pianura	Seminativo	59,9	13,0	9,8	17,7	0,16	0,34	136,8	34,1	6,6
11	Pressana di Cologna Veneta pianura	Seminativo	34,0	11,0	21,0	33,2	0,32	0,48	378,5	18,1	7,3
12	Biondi di Belfiori (Verona) pianura	Seminativo arboreo	13,5	9,5	28,4	47,0	0,93	0,67	156,2	28,9	7,4

Ecco i risultati:

Tabella IV

Porosità e superfici dei terreni

Numero	Peso specifico apparente	Peso specifico reale	Spazi vuoti in 150 gr. di terreno cc.	Superfice delle particelle in 150 gr. di terreno cm^2
1	0,90	2,27	66	116
2	0,95	2,21	60	120
3	0,95	2,21	60	120
4	0,93	2,28	57	124
5	0,93	2,28	57	124
6	0,93	2,28	57	124
7	1,14	2,27	85	96
8	0,90	2,27	66	116
9	1,04	2,23	72	108
10	1,03	2,50	64	115
11	1,20	2,70	55	116
12	0,88	2,38	61	121

Questi risultati sono in perfetto accordo coi dati dell'analisi fisico-meccanica.

Infatti si nota che i terreni più ricchi di sabbia grossolana, nn. 7-9-10, presentano anche la massima porosità (volume degli spazi vuoti sino al 60 %) e il minore sviluppo superficiale, mentre i terreni più ricchi di frazioni limose e argillose presentano una bassa porosità (dal 35 al 40 %) e il massimo sviluppo superficiale.

In questa prima serie di ricerche si cimentò anzitutto il colloidismo dei terreni di fronte ai seguenti sali azotati:

$$(NH_4)_2SO_4,\ NH_4Cl,\ NH_4NO_3,\ NaNO_3,\ KNO_3,\ Ca(NO_3)_2,\ CO(NH_2)_2,\ CaCN_2$$

ripromettendomi di estendere le ricerche alla serie dei sali fosfatici e potassici.

E passo senz'altro a riportare per esteso le prove effettuate ed i risultati ottenuti.

1. - Studio della percolazione e della filtrazione.

Il comportamento fisico del terreno rispetto all'acqua e alle soluzioni fu studiato impiegando allunghe di vetro del diametro interno di cm. 4 e lunghe cm. 40.

In queste allunghe venivano messi g. 150 di terreno e sopra si versavano cc. 100 di soluzioni n./10 dei vari sali. Si misurava:

a) il tempo occorrente per la completa imbibizione del terreno (percolazione) e da questo si calcolava il coeficiente di assorbimento.

b) il tempo compreso fra la completa imbibizione e la fine dello sgocciolamento (filtrazione) e da questo si calcolava la velocità di filtrazione.

c) la quantità del liquido di deflusso.

Ecco quanto si rilevò nei singoli esami.

Percolazione. – I tempi richiesti nei vari casi per la completa imbibizione del terreno sono qui appresso riportati:

Tabella V

Tempi richiesti per la completa imbibizione dei terreni

N. terreno	H_2O	$(NH_4)_2SO_4$	NH_4Cl	NH_4NO_3	$NaNO_3$	KNO_3	$Ca(NO_3)_2$	Urea	$CaCN_2$
1	7'55"	13'05"	11'15"	10'34"	11'14"	12'21"	12'17"	11'25"	13'94"
2	47'55"	37'25"	26'10"	37'42"	33'55"	37'05"	32'05"	38'35"	34'15"
3	81'40"	62'20"	03'15"	50'10"	72'20"	01'13"	42'08"	58'10"	30'37"
4	41'16"	50'33"	42'18"	39'11"	05'10"	15'13"	20'34"	00'00"	35'45"
5	72'25"	47'35"	43'15"	48'03"	51'15"	66'15"	28'35"	49'40"	45'40"
6	35'40"	19'15"	19'15"	20'01"	32'07"	16'20"	19'35"	21'22"	22'15'
7	4'30"	4'45"	4'02"	8'22"	10'32"	4'05"	4'55"	3'29"	6'25'
8	38'25"	33'10"	43'20"	36'40"	37'55"	34'40"	27'50"	36'40"	24'10"
9	2'45"	11'56"	6'00"	1'40"	2'15"	2'15"	3'05"	1'25"	5'05"
10	4'25"	7'23"	3'45"	6'10"	3'08"	2'38"	3'53"	4'35"	7'10"
11	2'15"	20'02"	25'01"	30'45"	25'05"	27'33'	29'37"	26'35"	26'03"
12	68'28"	31'25"	27'15"	27'43"	28'45"	42'52"	28'22"	59'10"	27'10"

Calcolando da queste cifre e dai dati sullo sviluppo superficiale delle particelle, i « coefficienti di assorbimento » (cioè le quantità di liquido espresse in cc. assorbite in 1" da 1 cm^2 della superficie totale del terreno) si pervenne a questi valori:

Tabella VI

Coefficienti di assorbimento
(i valori vanno moltiplicato $\times 10^{-4}$)

N.	$(NH_4)_2SO_4$	NH_4Cl	NH_4NO_3	$NaNO_3$	KNO_3	$Ca(NO_3)_2$	Urea	$CaCN_2$	H_2O
1	2,7	2,1	2,4	2,4	2,7	3,3	2,3	3,2	2,3
2	3	4	3	2,5	3	2,5	3	3	2
3	2	2	1,7	1	2	2	2	3	1
4	1,5	2	2	1,2	2	3	1,2	2	2
5	1,5	2	1,5	1,5	1,2	3	1,5	1,5	1
6	4	4	4	3	5	4	4	4	2
7	33	33	18	14	33	33	45	24	33
8	2,8	2,1	2,3	2,3	2,8	3,3	2,3	3,3	2,3
9	10	18	66	40	40	37	66	22	40
10	13	26	15	29	40	26	22	13	22
11	2,5	3	2,5	3	3	2,5	3,0	3	34
12	2,6	3	3	3	2	3	1,5	3	1

Un semplice sguardo alle cifre che precedono dimostra che già nei riguardi dell'assorbimento dell'acqua pura i terreni presentano un comportamento nettamente diverso. Si passa da terreni (nn. 1–2–3–4–5–6–8–12) con un bassissimo coefficiente di assorbimento (da 1 a 2,3 $\times 10^{-4}$) a terreni (nn. 7–9–10–11) col massimo coefficiente di assorbimento (da 33 a 40×10^{-4}).

In quest'ultima categoria vi sono i terreni nn. 7–9–10 più ricchi di sabbia grossolana e il terreno n. 11, che seppure scarso di sabbia grossolana, è ricchissimo di calcare in particelle grossolane che praticamente, ai fini dell'assorbimento idrico si comportano come particelle sabbiose. In conclusione è sufficiente che la percentuale di particelle grossolane di un terreno di raddoppi, perchè la velocità dell'imbibizione verso l'acqua si accresca di 20–30 volte tanto.

Se ora sottoponiamo ad un esame critico il comportamento delle soluzioni dei diversi sali azotati di fronte a queste due categorie di terreni così diverse nei confronti dell'assorbimento idrico, troviamo che nei terreni a lenta imbibizione (nn. 1–2–3–4–5–6–8–12) tutti i sali azotati presi in esame accelerano l'assorbimento dell'acqua per parte del terreno, raddoppiando e talora triplicando il coefficiente di assorbimento.

Questo fenomeno si può abbastanza facilmente interpretare riferendoci all'azione precipitante degli elettroliti per cui si accentua la struttura glomerulare di questi terreni e quindi la loro porosità.

Nei terreni a rapida imbibizione (nn. 7–9–10) gli stessi sali si comportano in modo vario, ma comunque poco sensibile. Alcuni, come

i nitrati di potassio e calcio mantengono inalterata la velocità di imbibizione del terreno, altri come la calciocianamide e il solfato ammonico la rallentano, mentre l'urea tende ad aumentarla.

Un fenomeno caratteristico è presentato dal terreno n. 11 ricco di calcare e a rapida imbibizione: in esso tutti i diversi sali azotati abbassano talmente la velocità d'imbibizione da portarla al livello di un terreno a lenta imbibizione. In altre parole in questo caso i sali azotati sembrano disgregare le particelle calcaree, annullando così il grado di porosità che esse conferiscono al terreno.

In conclusione i sali azotati in esame, senza eccezione alcuna modificano il fenomeno d'imbibizione dei terreni in un duplice senso:

1) quando l'imbibizione del terreno è lenta per la scarsezza di elementi sabbiosi grossolani i sali azotati possono raddoppiare e triplicare la velocità dell'assorbimento dell'acqua;

2) quando al contrario l'imbibizione risulta troppo rapida per l'abbondanza di calcare grossolano i sali azotati e in modo particolare il solfato di ammonio, il nitrato di calcio e il nitrato di potassio, portano allo sbriciolamento della frazione calcarea e realizzano un cospicuo rallentamento dell'imbibizione (in questo caso occorre un tempo quindici volte maggiore).

Filtrazione. – I tempi richiesti per il completo sgocciolamento del liquido e le quantità del liquido di deflusso sono riportati nella tabella che segue:

Tempi di filtrazione e quantità

Numero	H_2O		$(NH_4)_2SO_4$		NH_4Cl		NH_4NO_3	
	tempi	cc.	tempi	cc.	tempi	cc.	tempi	cc.
1	52'45"	27	52'44"	34	30'11"	35	52'11"	40
2	53'07"	14	28'10"	16	50'18"	10	19'11"	13
3	105'20"	20	75'16"	24	57'10"	20	42'20"	22
4	26'52"	7	19'22"	6	15'16"	9	30'15"	7
5	65'32"	11	22'55"	10	21'45"	11	33'15"	9
6	47'05"	20	36'40"	24	30'45"	26	30'27"	19
7	11'35"	32	16'05"	33	8'40"	33	29'38"	35
8	61'40"	30	80'05"	30	74'05"	17	50'38"	33
9	6'35"	32	28'53"	32	13'55"	36	6'40"	31
10	17'25"	34	20'48"	33	6'35"	31	4'35"	26
11	12'05"	22	33'04"	27	21'25"	32	68'43"	31
12	50'02"	10	28'35"	12	16'35"	12	21'42"	12

Se da questi dati calcoliamo le velocità di filtrazione (cc. di liquido filtrato 1") troviamo questi valori:

Tabella VIII

Velocità di filtrazione

N.	H_2O	$(NH_4)_2SO_4$	NH_4Cl	NH_4NO_3	$NaNO_3$	KNO_3	$Ca(NO_3)_2$	$Co(NH_3)_2$	$CaCN_2$
1	0,009	0,010	0,020	0,013	0,021	0,013	0,03	0,011	0,010
2	0,004	0,010	0,003	0,013	0,013	0,015	0,012	0,007	0,007
3	0,003	0,005	0,006	0,009	0,007	0,007	0,010	0,007	0,013
4	0,004	0,006	0,009	0,004	0,005	0,006	0,013	0,008	0,001
5	0,003	0,007	0,008	0,005	0,004	0,006	0,007	0,006	0,009
6	0,007	0,011	0,014	0,011	0,020	0,022	0,010	0,020	0,012
7	0,045	0,034	0,065	0,020	0,015	0,036	0,032	0,043	0,016
8	0,008	0,006	0,004	0,011	0,009	0,010	0,011	0,007	0,008
9	0,08	0,020	0,043	0,080	0,070	0,080	0,080	0,060	0,035
10	0,032	0,026	0,080	0,10	0,070	0,070	0,035	0,053	0,032
11	0,030	0,013	0,030	0,08	0,020	0,011	0,008	0,009	0,006
12	0,003	0,007	0,012	0,010	0,009	1,008	0,010	0,006	0,011

Queste cifre rivelano che nei riguardi della filtrazione dell'acqua i diversi terreni si comportano in modo perfettamente corrispondente all'imbibizione.

E cioè i terreni di più rapida filtrazione sono gli stessi (nn. 7–9–10–11), dove si è osservata la maggiore velocità di imbibizione. E il

Tabella VII

lel liquido di deflusso

$NaNO_3$		$K NO_3$		$Ca(NO_3)_2$		$Co(NH_3)_2$		$CaCN_2$	
tempi	cc.	tempi	cc.	tempi	cc.	tempi	cc.	tempi	cc.
24'11"	31	42'35"	34	19'15"	32	46'14"	31	15'	28
18'55"	15	17'50"	15	16'03"	12	40'31"	17	36'10"	15
51'20"	21	51'45"	22	34'18"	20	50'27"	21	30'30"	25
31'35"	10	28'53"	10	10'35"	8	18'32"	9	20'46"	4
42'50"	10	28'25"	11	23'46"	10	41'10"	13	21'05"	11
36'45"	30	33'22"	25	38'45"	24	31'11"	36	37'10"	28
36'48"	35	15'32"	34	17'05"	32	13'50"	36	37'26"	35
36'04"	18	52'38"	33	40'20"	28	37'10"	16	68'15"	31
8'11"	34	5'50"	29	5'06"	30	9'50"	34	14'35"	31
8'08"	33	8'35"	34	16'10"	34	10'45"	34	17'36"	32
31'25"	35	50'25"	34	51'52"	26	55'40"	30	42'40"	15
21'05"	11	20'15"	10	21'15"	13	31'50"	12	19'12"	12

rapporto delle velocità di filtrazione è a un dipresso lo stesso che esiste fra le velocità di percolazione.

Del pari si conferma che i sali azotati reagiscono particolarmente sui terreni poveri di elementi sabbiosi grossolani dove la velocità di filtrazione si mantiene al disotto di 0,009 cc/1″: in questi terreni essi accelerano sempre la velocità di filtrazione talora in modo da annullare le distanze fra i terreni di lenta e quelli di rapida filtrazione. Le cifre non permettono però di stabilire nessuna graduatoria fra il potere accelerante dei diversi sali.

Quando la velocità di filtrazione raggiunge e supera i cc. 0.03/1″ l'effetto dei sali azotati non è più altrettanto netto, comunque è in genere poco marcato.

II. – Studio del potere adsorbente

Sui liquidi defluiti attraverso il terreno fu ripetuto il dosamento delle diverse forme di azoto.

Si osservò che sotto questo riguardo le soluzioni impiegate si potevano dividere in due categorie:

a) Soluzioni che subivano un'apprezzabile perdita di azoto in tutti i casi.

In questa categoria annoveriamo le soluzioni dei sali ammoniacali e della calciocianamide.

Ecco in proposito le perdite di azoto osservate (riferite a 100 p. di azoto iniziali):

Tabella IX

Percentuali di azoto assorbite

Soluzioni	Terreni											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
$(NH_4)_2SO_4$ . .	88	91	85	68	88	51	86	88	83	89	93	94
NH_4Cl . . .	78	88	17	83	75	92	81	78	83	94	92	92
NH_4NO_3 . .	85	87	87,5	71	71	85	70	80	79	79	93	91
$CaCN_2$ . . .	35	35	35	12	18	47	29	6	22	6	35	83

Come si vede, in tutti i casi l'NH_4 è fortemente trattenuto sino nella dose di oltre il 90 % e specie nei terreni nn. 2–6–10–11–12 ove l'analisi ha dimostrato una maggiore quantità nei colloidi argillosi e umici.

Non si nota alcuna particolare influenza dell'anione unito all'ammonio.

L'azoto cianamidico è assorbito in misura notevolmente inferiore, ad eccezione dei terreni n. 12 e n. 6 dove si raggiunge rispettivamente la dose dell'83 % e del 47 %.

Comunque l'assorbimento è molto irregolare forse in relazione alla diversa velocità dell'ammonizzazione nei diversi tipi di terreno.

b) Soluzioni che sottraggono azoto al terreno.

Fra queste annoveriamo specie la soluzione di urea che dopo il deflusso attraverso il terreno è quasi sempre più ricca di azoto, specie ammoniacale, come risulta da queste cifre:

Tabella X

Mg. di azoto ceduti da 100 gr. di terreno

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1,5	—	4,6	10	2	—	8,4	20,5	28	19,3	19,6	4,6

L'urea esercita quindi un'azione disperdente sui colloidi che vengono così a perdere una parte dell'ammoniaca fissata.

Questo comportamento può essere utile se la pianta è in grado di fissare subito l'NH_3 libera; mentre risulta dannoso quando induce una forte alcalinità e quando, per l'assenza delle colture, si verifica un disperdimento di azoto nel terreno.

È da tenere però presente che l'urea è soggetta ad ammonizzarsi per cui la sua azione nociva sarà tanto più effimera quanto più rapido sarà nel terreno il processo di ammonizzazione.

Talora anche le soluzioni dei nitrati sottraggono azoto dal terreno, specie azoto ammoniacale.

Ecco le cifre in proposito:

Tabella XI

Mg. di azoto ceduti da 100 g. di terreno

Soluzioni	Terreni											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
NH_4NO_3 . .	9,1	11,6	46,7	—	23,3	21	1,4	-	-	—	-	-
$NaNO_3$ . . .	—	-	—	46,7	- -	28	-	-	-	28	-	- -
KNO_3 . . .	—	- -	-	—	—	16,3	- -	8,6	-	—	—	---
$Ca(NO_3)_2$ . .	—	-		—	11,6	46,7	16,2	23,7	-	8,4	-	-

È da notare che il fenomeno si verifica nei terreni a più basso tenore di $CaCO_3$ (infer. al 10%) dove quindi i colloidi vengono facilmente dispersi dagli ioni alcalini. La perdita osservata col nitrato di calcio si spiega invece con lo scambio nella micella colloidale fra il Ca e l'NH_4 cioè col passaggio della NH_4 – argilla alla Ca–argilla.

III. – Studio del potere cuscinetto

Il potere cuscinetto si determinò in base alla variazione della concentrazione idrogenionica del terreno indotta dalla presenza dei vari sali azotati. Tale variazione fu espressa coi fattori di aumento o di diminuzione rispetto alla concentrazione idrogenionica iniziale.

Come risulta dalle annesse tabelle sono soprattutto la calciocianamide e l'urea che inducono sempre una forte alcalinizzazione dei terreni, fenomeno che va messo in relazione con l'influenza disperdente di queste forme di azoto.

All'incontro i nitrati ed i sali ammoniacali sviluppano un'azione molto meno decisa, quasi neutralizzata dal potere tampone di questi terreni. Questi sali inducono un certo numero di alcalinità solo nei terreni nn. 2–4–5–6–7–9–10 mentre nei nn. 1–3–8–11–12– tendono ad aumentare la concentrazione idrogenionica spostando la reazione verso il campo acido.

Tabella XII

Aumento della concentrazione idrogenionica iniziale
(rispetto alla concentrazione iniziale fatta = 1)

N.	P_H del terreno	$(NH_4)_2SO_4$ $P_H = 7,2$	NH_4Cl $P_H = 7,4$	NH_4NO_3 $P_H = 7,2$	$NaNO_3$ $P_H = 7,2$	KNO_3 $P_H = 7,2$	$Ca(NO_3)_2$ $P_H = 7,2$	Urea $P_H = 7,4$
1	7,6	1,5	0,6	-	1,5	—		-
2	6,8	-		—	—	—	-	—
3	7,2	3,0	0,6	1,5	3,0	0,6	1,5	0,6
4	7,2	-	—	-	—	—	-	
5	7,2	-	—	—	—	- -	-	-
6	7,0	—	-	-		—	0,6	
7	6,8	—	- -	—	—	—	—	— -
8	7,6	—	—	0,6	3,0	0,6	2,0	- -
9	6,8	- —	—	—	—	—	-	
10	6,6	—	—	-	—	—	-	-
11	7,3	0,3	—	0,3	—	—	—	—
12	7,4	0,6	15	15	15	—	—	—

Tabella XIII

Diminuzione della concentrazione idrogenionica iniziale (rispetto alla concentrazione iniziale fatta = 1)

N.	P_H del terreno	$(NH_4)_2SO_4$ $P_H = 7,2$	NH_4Cl $P_H = 7,4$	NH_4NO_3 $P_H = 7,2$	$NaNO_3$ $P_H = 7,2$	KNO_3 $P_H = 7,2$	$Ca(NO_3)_2$ $P_H = 7,2$	Urea $P_H = 7,4$	$CaCN_2$ $P_H = 8,8$
1	7,6	—	—	—	—	—	—	0,8	0,6
2	6,8	0,7	0,37	0,6	0,4	0,7	0,6	0,9	0,7
3	7,2	—	—	—	—	—	—	—	0,7
4	7,2	0,6	0,6	0,6	0,9	0,9	0,6	1	0,9
5	7,2	0,6	0,6	0,3	—	0,6	—	0,6	0,9
6	7,0	0,7	0,6	0,6	0,6	0,75	—	0,6	0,8
7	6,8	0,6	—	—	0,4	0,37	—	0,4	0,7
8	7,6	—	—	—	—	—	—	—	0,5
9	6,8	0,7	0,7	0,7	0,9	0,7	0,6	0,9	0,9
10	6,6	0,6	0,4	0,4	0,8	0,6	0,4	0,6	0,8
11	7,3	—	0,2	—	0,2	0,2	0,5	0,2	0,9
12	7,4	—	—	—	—	—	—	—	0,5

CONCLUSIONI

Queste prime prove, condotte su un certo numero di terreni calcarei e vario contenuto di sabbia, di limo e d'argilla, hanno chiarito che i sali azotati possono talora esplicare, in unione al potere fertilizzante, anche un'azione modificatrice dello stato dei colloidi minerali e umici contenuti nel terreno.

Questa influenza si rende evidente col particolare comportamento del terreno di fronte alla percolazione e alla filtrazione, nonchè nei riguardi del potere adsorbente e del potere cuscinetto.

Tutti i composti azotati presi in esame e cioè: $(NH_4)_2SO_4$, NH_4Cl, NH_4NO_3, $NaNO_3$, KNO_3, $Ca(NO_3)_2$, $CO(NH_2)_2$, $CaCN_2$ hanno favorevolmente modificato la struttura di quei terreni dove la frazione limo + argilla oscillava intorno al 35–45 %.

La loro presenza ha accentuato la flocculazione dei colloidi e la struttura glomerulare e di conseguenza si è raddoppiata ed anche triplicata la velocità di penetrazione dell'acqua, inizialmente molto bassa.

In un solo caso si è osservata una modificazione strutturale sfavorevole: quando il terreno dimostrava un contenuto eccessivamente elevato, circa il 40 %, di calcare grossolano.

In queste condizioni i sali azotati hanno esercitato una netta azione disperdente e l'iniziale porosità elevata del terreno si è ridotta ad un

valore molto basso. In questi tipi di terreni bisognerà andare cauti nelle somministrazioni azotate.

Agli effetti della fissazione dell'azoto combinato nel terreno le prove hanno dimostrato che essa è anzitutto funzione di due varianti e cioè del contenuto limo + argilla + humus e della natura dell'azoto combinato.

Tutti i collolidi del terreno, organici ed inorganici, sono ugualmente interessati alla fissazione dell'azoto ammoniacale che fu fissato nella proporzione massima del 95 % quando nel terreno la frazione limo + argilla + humus raggiungeva il 51 % circa.

Pertanto, indipendentemente dalla natura dell'anione, lo jone NH_4 si rivela come il più efficace sostenitore della struttura flocculata dei colloidi e quindi particolarmente adatto quando manchino o scarseggino le altre condizioni richieste per la comparsa e la conservazione della struttura glomerulare.

Molto meno assorbito si è dimostrato in questi terreni l'azoto cianamidico; solo $\frac{1}{3}$ circa della quantità iniziale fu sottratto dalla soluzione circolante e non fu possibile osservare nessuna dipendenza fra fissazione e contenuto colloidale. Evidentemente nel fenomeno della fissazione dell'azoto cianamidico interferisce anche il processo di ammonizzazione e il contenuto in calcio del concime.

Nei terreni dove questo processo è particolarmente rapido non vi dovrà essere evidentemente alcuna sensibile differenza fra calciocianamide e concimi ammoniacali nei riguardi della struttura del terreno, e saranno questi i terreni preferibili per l'azoto cianamidico.

All'incontro l'urea nei diversi terreni non solo non dimostra di essere trattenuta, ma è essa stessa in grado di mobilizzare quantità non indifferenti di azoto ammoniacale, ciò che si può spiegare ammettendo un'azione deflocculante dell'urea sui colloidi. L'urea, il cui uso si sta diffondendo, si presterà quindi alla concimazione di terreni dove le colture siano già sufficientemente sviluppate da utilizzare rapidamente l'azoto del terreno, e là dove le condizioni di clima e di terreno assicurino una rapida ammonizzazione dell'azoto ammidico.

Anche i nitrati talora mobilizzano l'azoto combinato del terreno, ma molto più raramente e meno intensamente dell'urea.

Comunque per questi concimi la tecnica agraria ha già suggerito da tempo le norme più acconcie per la loro migliore utilizzazione. Solo bisognerà evitare delle somministrazioni troppo frequenti di nitrati di sodio e di potassio, onde evitare un rapido peggioramento della struttura dei terreni.

Agli effetti della reazione che i sali azotati sono capaci di indurre nei terreni, bisogna subito avvertire che verso taluni sali i terreni, qualunque sia il loro contenuto in calcare e la loro costituzione fisico-meccanica, non sviluppano un potere cuscinetto sufficientemente elevato. Così accade verso la calciocianamide e l'urea che producono sempre un aumento sensibile dell'alcalinità riducendo talora quasi a zero la concentrazione degli ioni H. Il fenomeno è facilmente spiegabile in quanto il loro impiego introduce nel terreno degli ioni alcalinizzanti poco o punto assorbiti, senza che vi sia un contemporaneo apporto di ioni acidificanti.

Il loro impiego continuato può quindi essere pernicioso per la reazione di terreni già alcalini e quando le reazioni indotte abbiano tutt'altro che un carattere passeggero.

Verso i nitrati ed i sali ammoniacali i terreni in esame, e specie quelli più ricchi di calcare, manifestano un forte potere cuscinetto che permette di mantenere entro limiti modesti le variazioni della reazione, orientate quasi sempre verso un aumento dell'alcalinità.

Partendo dal presupposto che i concimi in genere devono aumentare la fertilità chimica del terreno senza peggiorarne il colloidismo e la struttura, questi risultati permettono di concretare alcune norme generali sull'impiego dei vari sali azotati:

1) I sali ammoniacali possono essere applicati a tutti i terreni e specie a quelli ove manchino o scarseggino le condizioni indispensabili per raggiungere e conservare la struttura glomerulare;

2) I nitrati sono anch'essi adatti per tutti i terreni a condizione che le colture siano già sufficientemente sviluppate per utilizzarli rapidamente;

3) La calciocianamide, in quanto alcalinizza fortemente il terreno, dovrà impiegarsi preferibilmente in terreni acidi e subacidi o in unione a concimi acidificanti;

4) L'urea, in quanto mobilizza cospicue quantità di azoto nel terreno spostandone nettamente la reazione nel campo alcalino, dovrà usarsi preferibilmente nei terreni acidi e subacidi dotati di un elevato potere adsorbente, dove le coltivazioni siano già sufficientemente sviluppate da sottrarre rapidamente l'azoto mobilizzato e dove le condizioni di clima e di terreno assicurino una rapida ammonizzazione dell'azoto ammidico.

Anche in questo caso i concimi acidificanti saranno utili nell'esaltare l'azione dell'urea, annullandone i caratteri perniciosi.

Naturalmente gli effetti realizzati in laboratorio nei rapporti fra acqua, sali e terreno, come conseguenza delle variazioni del

colloidismo avranno una portata molto meno rapida ed evidente nel campo pratico.

Ma se modeste risulteranno le influenze conseguibili con una o poche somministrazioni, esse possono divenire cospicue se l'apporto dei sali azotati viene proseguito per più anni sullo stesso terreno in modo irrazionale.

Sotto questo riguardo ritengo utile che ai fini di una razionale concimazione si tenga conto non solo dell'effetto subitaneo che i trattamenti operano sulla pianta coltivata, bensì anche degli effetti che a lunga scadenza questo trattamento può indurre nel terreno, e che si manifestano talora con una inerzia sempre più evidente verso l'opera dell'uomo.

RIASSUNTO

L'A. riferisce i risultati di uno studio diretto a chiarire i rapporti fra il colloidismo del terreno e i concimi azotati.

Viene messo in rilievo che questi sali nelle dosi comunemente impiegate possono notevolmente interferire sulla percolazione, sul potere adsorbente, sulla reazione e sul potere cuscinetto dei terreni, per cui il loro impiego deve essere subordinato all'osservanza di alcune norme che vengono specificate.

SUMMARY

THE COLLOIDISM OF THE SOIL AND ITS RELATIONSHIPS TO FERTILIZING

RESEARCHES DONE ON NITROGEN FERTILIZERS

by ETTORE BOTTINI

The author relates the results of a study intended to explain the connection between the colloidism of the soil and nitrogen fertilizers.

It is emphasized that these salts in the dosage commonly employed may greatly influence the drainage, the absorbing power, the ' pH ' reaction and the buffer system of the soils, therefore their use should be subordinated to the observance of certain rules which are here specified.

Ricevuto il 18 marzo 1950.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Giuseppe Gattorta

RICERCHE SULLA DETERMINAZIONE DEL MANGANESE ASSIMILABILE NEL TERRENO

Premessa

1. — Assimilabilità dei composti del manganese

Lo stato dei composti del manganese nel terreno in rapporto con la loro utilizzazione da parte delle piante coltivate ha formato oggetto, negli ultimi anni, di molti studi, che hanno portato notevoli contributi alla chiarificazione del problema.

Già nel 1924 G. Bertrand (1), ponendo la questione dell'assimilabilità del manganese, aveva classificato fra le varie forme possibilmente esistenti nel suolo, oltre al carbonato ed al solfato manganosi, facilmente solubili negli acidi deboli, forme organiche più o meno complesse, ossidi attaccabili dall'acido cloridrico concentrato, utilizzabili dalle piante solo assai lentamente, ed infine altri composti dotati di alta resistenza quali i silicati macrocristallini.

Secondo quest'autore è da attendersi un beneficio per le colture da somministrazioni di sali manganosi, ove difettino nel suolo le forme bene accessibili alle piante pur se abbondanti le altre.

Si tenga presente che come microelemento il manganese è richiesto dalle piante solo in tenui quantità, e che si raggiungono già effetti tossici con le soluzioni nutritive alle proporzioni in manganese di 1:40.000 (2,5 p.p.m.) per l'orzo e di 1:400.000 (25 p.p.m.) per il pisello (2).

La classificazione del Bertrand ha avuto successivi sviluppi: esclusa l'esistenza almeno in quantità apprezzabili dei fosfati e carbonati, è stata invece ammessa la possibilità che il manganese bivalente sia contenuto in forma cosidetta scambiabile, con legami di assorbimento colloidale, alla stregua di altri cationi. *

Non potevano tuttavia sfuggire agli studiosi dell'argomento le variazioni nel grado di ossidazione degli ossidi del manganese, che costituiscono, anche secondo Bertrand, la frazione più abbondante, promosse da modificazioni nelle condizioni di ossido-riduzione nel suolo che hanno luogo per fatti naturali od agronomici.

* Circa l'esistenza del manganese nel terreno sotto la comune forma scambiabile, lo scrivente ritiene opportuno avanzare qualche riserva, trattandosi di catione la cui sorte nel suolo è quella di passare ad ossidi insolubili più o meno idratati: questi sono tuttavia attaccabili in diverso grado dalla soluzione di acetato ammonico. È soltanto per brevità e per uniformarsi alla nomenclatura corrente, che le quote di Mn disciolte dell'acetato ammonico vengono qui riferite come scambiabili.

Già nel 1918 Conner (3) aveva trovato un aumento nel manganese scambiabile nel suolo in seguito alle sue sommersioni. L'osservazione venne ripetuata più tardi da Schollenberger (4) e da Metzger (5), mentre Piper (6) diede al fenomeno dimostrazione sperimentale. Tuttavia per alcuni terreni a basso potere ossiriduttore esaminati dallo scrivente è stato riscontrato che l'essiccamento e l'esposizione prolungata all'aria non provocano abbassamento nel contenuto di manganese scambiabile.

Assai evidenti inoltre i rapporti fra le disponibilità di manganese ed il grado di reazione del suolo: con l'aumento del grado di acidità le disponibilità stesse crescono notevolmente, ed inversamente con l'aggiunta di correttivi calcarei una parte del manganese assimilabile passa allo stato inattivo (7). Allo sviluppo di queste cognizioni e dei mezzi di indagine per misurare l'entità dei fenomeni relativi, ha contribuito una larga schiera di studiosi da S. G. Heintze (8), a F. Steenbjerg (9), a G. W. Leeper (10), a S. G. Heintze e P. J. G. Mann (11), per citare alcuni fra i più noti. Per riferire dettagliatamente su ciascuna delle indagini eseguite occorrerebbe molto spazio. Si ritiene tuttavia dover richiamare le interessanti correlazioni trovate da S. G. Heintze (*loc. cit*) fra il contenuto in manganese estratto dal suolo con soluzioni di nitrato di calcio e di magnesio ed il manifestarsi del marciume maculato del pisello* («marsh spot»). I valori del contenuto in manganese prontamente solubile («readily soluble manganese») rispondenti in questo caso all'effettivo fabbisogno colturale, furono ricavati con l'artifizio della doppia estrazione e dell'applicazione della formola iperbolica, proposta da Vageler e Woltersdorf (12) (formula di Lagmuir-Walko) già usata nei confroni del manganese da Steenbjerg (*loc. cit.*). Tali valori pertanto esprimono il contenuto scambiabile totale teoricamente ricavabile.

Avendo l'Heintze operato con soluzioni di nitrati, si deve escludere la possibilità che nell'estrazione del manganese siano intervenuti fenomeni riduttivi, i quali abbiano interessato le forme ossidate dell'elemento e non suscettibili di solubilizzazione nelle condizioni sperimentali.

Il limite di sufficenza, al disotto del quale i legumi vanno incontro al marciume maculato («marsh spot») fu trovato da Heintze intorno a 20 p.p.m. di manganese scambiabile. Per la malattia olandese dell'avena** («grey speck») il limite trovato da Steenbjerg si aggirava invece su 2 p.p.m.

Questo evidente divario di risultati sui limiti di sufficienza, il fatto che per terreni a differente grado di reazione i limiti stessi siano stati trovati in seguito largamente diversi, e che si abbiano per uno stesso terreno variazioni nella utilizzazione del manganese in seguito a sommersione o comunque a cambiamenti nello stato ossiriduttivo, compromettono l'attendibilità dei dati sul manganese scambiabile. Questi valori tutt'al più possono dar ragguaglio sulle attitudini del terreno a cedere il manganese alle colture, limitatamente alle condizioni attuali del terreno ed allo strato cui si riferisce il campione.

Per un giudizio più ampio, che contempli anche il variare delle attitudini stesse coi cambiamenti dello stato ossiriduttivo, si considera oggi il contenuto di «manganese attivo», come fu definito da G. D. Shermann, J. S. MacHargue e W. S. Hodgkiss (13). Tale contenuto comprende il manganese bivalente prontamente utilizzabile (secondo Heintze) ed il manganese trivalente facilmente ridu-

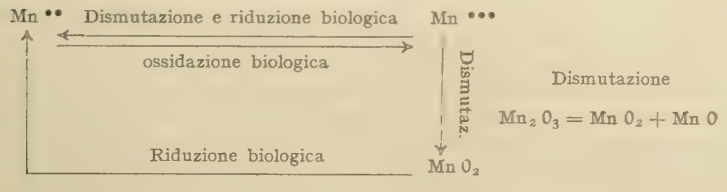
---

* Nomenclatura suggerita dal prof. C. Sibilia.
** Nomenclatura adottata dal prof. L. Petri.

cibile. La quota di quest'ultimo era già stata definita da Leeper (14) come costituita da ossidi manganici attivi i quali, se presenti in quantità sufficiente, possono costituire una sorgente dell'elemento per l'utilizzazione da parte delle piante via via che si verifica la loro riduzione ad opera della microflora.

Lo stesso Leeper afferma infatti che un gran numero di terreni alcalini pur deficienti in manganese scambiabile non manifestano carenze fisiologiche perchè dotati di ossidi manganici facilmente riducibili.

Le forme variamente ossidate del manganese nel terreno si trovano sotto un equilibrio, che può essere rappresentato col seguente schema suggerito da P. G. J. Mann e J. H. Quastel (15).



A parte le condizioni di asfissia o di areazione che si manifestano nel suolo le trasformazioni dell'una forma nell'altra sono principalmente dominate dalla reazione e dalla sostanza organica. Secondo Leeper (*loc. cit.*) infatti nei terreni acidi è favorita l'esistenza della forma bivalente, poichè l'ossidazione batterica è debole ed entra in giuoco la sostanza organica determinando una spiccata azione riducente. Nei terreni alcalini, al contrario, dove sono esaltati i fenomeni di ossidazione è favorito il prevalere della forma trivalente.

In ogni caso gli spostamenti nell'equilibrio $Mn^{\bullet\bullet} \rightleftarrows Mn^{\bullet\bullet\bullet}$ sono un fattore agrariamente normale e frequente in rapporto con i mutamenti delle condizioni di aereazione del suolo.

Tali spostamenti nell'equilibrio tra le forme ossidate e ridotte del manganese è da ritenere inoltre siano più ampie nei terreni particolarmente sensibili alle variazioni indotte dalla sommersione sul potenziale di ossido-riduzione.

2. — Metodi di estrazione del manganese assimilabile.

Di pari passo con lo sviluppo dei concetti sopra esposti, sull'assimilabilità delle varie forme del manganese, sono stati adottati diversi procedimenti per la valutazione delle attitudini del suolo a cedere l'elemento ai vegetali.

La determinazione del manganese scambiabile con soluzione normale di acetato ammonico è stata adottata da Schollenberger (16) il quale estraeva, insieme con le altre basi, il manganese su numerosi campioni di terreno, al fine di esaminare l'effetto delle concimazioni e delle coltivazioni sul contenuto di basi scambiabili. Molti altri autori si sono serviti per la stessa determinazione dell'acetato ammonico, le prove di confronto eseguite coi nitrati di calcio e di magnesio, e già accennate hanno fornito risultati comparabili. L'acido acetico N/2, proposto da R. Williams (17) per l'estrazione delle basi scambiabili, e l'acido citrico all'1 % furono impiegati da S. G. Heintze (*loc. cit.*) in confronto con l'estrazione a mezzo del nitrato di calcio: le due estrazioni acide fornirono valori sensibilmente

maggiori. Leeper ha giustificato il fatto supponendo che lo ione idrogeno è certamente molto più efficace dell'ammonico a spostare gli ioni manganosi, e Steenbjerg ha ammesso che possa essere anche attaccata una parte del sesquiossido. Secondo quest'ultimo lo stesso cloruro ammonico potrebbe portare più in là di un semplice scambio ionico, in conseguenza della sua reazione acida.

Secondo McCool (18) la determinazione con estrazioni acide può ad ogni modo rappresentare sia il manganese scambiabile, sia una parte indefinita degli ossidi più reattivi, e dare quindi riferimenti sulle doti tossiche dell'elemento in terreni acidi.

L'uso dell'idrochinone addizionato all'acetato ammonico, è stato introdotto in seguito ad una interessante esperienza di L. Gisiger (19) da Leeper (1935), il quale valutava in tal modo il manganese assimilabile totale, « manganese attivo », cioè la quota scambiabile più quella facilmente riducibile.

L'estrazione veniva operata con acetato ammonico N/1 addizionato del 0,2 % di idrochinone, entro un periodo di tempo non superiore ai 30′ per evitare l'attacco di ossidi manganici meno reattivi. Anche questi ultimi verrebbero ridotti, secondo lo stesso Leeper (1948) quando in luogo dell'idrochinone si usi il tiosolfato sodico, col quale infatti egli ha ottenuto quote di manganese estratto più elevate. Quest'affermazione non ha trovato invero conferma nelle prove eseguite nel presente studio ed appresso esposte.

Nel 1946 S. G. Heintze (20) usando come mezzo di estrazione il metafosfato sodico ricavò l'intiero contenuto in manganese legato alla sostanza organica su terreni palustri; su altri terreni, neutri ed alcalini estrasse poi i prodotti dell'ossidazione di sali manganosi ivi aggiunti. In seguito H. G. Dion e P. J. G. Mann (21) fecero uso del pirofosfato sodico il cui comportamento rispetto alle varie forme del manganese è stato successivamente studiato da Heintze e Mann (22) anche in relazione alle aggiunte di sali di alcuni metalli pesanti ed in confronto con la soluzione di acetato ammonico. La scelta del più idoneo mezzo di estrazione per il manganese bivalente, esistente nel suolo, sembra tuttavia argomento di minor rilievo di fronte alla valutazione delle aliquote, assai più rilevanti e parimenti assimilabili, provenienti dalle riduzioni degli ossidi superiori.

Sembra inoltre che la determinazione del manganese, ai fini dell'accertamento delle attitudini e deficienze del suolo nei confronti delle esigenze culturali, debba essere eseguita su ambedue le forme dette.

Su questa direttiva Shermann, McHargue e Hodgkiss, nel 1942, avevano suggerito l'opportunità di compiere una triplice estrazione, da eseguire successivamente sullo stesso terreno: esso veniva cioè estratto anzitutto con acqua, poi con acetato ammonico N/1 ed infine con acetato ammonico addizionato dello 0,2 % di idrochinone; sui tre estratti veniva separatamente determinato il manganese.

In casi particolari riguardanti i terreni nei quali il contenuto sia tanto elevato da toccare i limiti di tossicità, la determinazione del manganese solubile nell'acqua ha un significato analogo a quello della quota scambiabile, mentre più comunemente, ove si tratti di accertare le eventuali deficenze del suolo ai fini agrari, tale determinazione può essere omessa perchè non indicativa nei confronti della carenza.

Il problema della valutazione del manganese assimilabile, qui sopra appena adombrato, per effetto dei risultati discordanti e delle numerose incertezze tuttora esistenti, è da ritenere aperto ad ulteriori ricerche, che potranno portare a contributi risolutivi soltanto se affiancati da prove fisiologiche.

Nella presente nota si riferisce su preliminari ricerche in merito all'applicazione di alcuni metodi di determinazione, ritenuti meglio rispondenti, del contenuto di manganese assimilabile nel terreno agrario premessa necessaria per poter estendere le indagini nel senso sopra indicato.

Parte sperimentale

A) Determinazione colorimetrica del manganese negli estratti di terreno

Ai fini della determinazione colorimetrica del manganese, per qualsiasi reagente usato come mezzo di estrazione, si è proceduto secondo le prescrizioni indicate appresso nella formulazione del metodo di analisi. L'ossidazione dei sali manganosi, ai fini della successiva determinazione colorimetrica, è stata eseguita nelle ricerche preliminari sia con persolfato ammonico in presenza di nitrato d'argento, sia con bismutato sodico *. Con entrambi i detti ossidanti la formazione dell'acido permanganico ha decorso quantitativo.

Ai fini della determinazione colorimetrica è stato impiegato un fotometro di Pulfrich, con filtro S. 53, come suggerito da C. Ferrari (23). Usando per le prove in bianco una soluzione di permanganato N/10, controllata con ossalato sodico, ed una soluzione di solfato manganoso N/50 controllata mediante determinazione ponderale sotto forma di pirofosfato manganoso, entrambi successivamente ed opportunamente diluite, sono stati calcolati i fattori per rapportare i valori dell'estinzione a mgr. di MnO per 100 gr. di terra; essi sono risultati, per vaschette dello spessore di cm. 2, 3 e 5 rispettivamente 15,49; 10,33; 6,20.

Sia partendo dalla soluzione di permanganato che da quella di solfato manganoso i valori dei fattori di calcolo anzidetti sono risultati identici alla seconda cifra decimale.

B) Prove di determinazione del manganese estraibile dal terreno, coi vari reattivi

Ai fini di una messa a punto circa la determinazione del manganese assimilabile nel terreno, va considerata principalmente la estrazione delle quote dell'elemento esistenti sotto la forma scambiabile e sotto quella facilmente riducibile.

---

* Sebbene da molti preferito, l'impiego del bismutato offre l'inconveniente di richiedere la filtrazione del suo eccesso, per filtro non ossidabile, ad ossidazione avvenuta.

Per la valutazione del manganese scambiabile, cioè dell'elemento bivalente legato allo stato adsorbito nei complessi colloidali, l'estrazione è stata praticata con soluzioni di acetato ammonico N/1 portato a pH 7,0.

Tuttavia si è ritenuto opportuno eseguire analogo trattamento su terreni privi di calcare o debolmente calcarei con acido acetico N/2 il quale già da altri è stato riscontrato atto a portare in soluzione quote di manganese maggiori rispetto all'acetato ammonico. Per l'estrazione del manganese facilmente riducibile sono stati provati su alcuni terreni italiani entrambi i riducenti precedentemente sperimentati da altri, cioè l'idrochinone e il tiosolfato sodico, addizionati alla soluzione di acetato ammonico nella proporzione dello 0,2 %. Su un terreno infine è stata studiata l'azione del chinidrone, aggiunto all'acetato ammonico nei confronti dell'estrazione del manganese.

Le estrazioni sono state eseguite in ogni caso su gr. 10 di terra secca all'aria e campionata al vaglio di 2 mm.; addizionando cc. 200 di soluzione, agitando e lasciando in riposo per i tempi indicati. I liquidi sono stati indi filtrati ed il terreno lavato in tre riprese con altri cc. 200 complessivi di soluzione. I terreni usati per le prove avevano le seguenti caratteristiche:

Tabella I

Caratteristiche dei terreni impiegati nelle ricerche

Num. del terreno	Provenienza	Reazione in pH	Calcare %	Humus %	Natura del terreno
2610	Roma, ten. Ostia	6,0	assente	1,9	sabbioso
2536	Ariccia, val. Ariccia	5,3	assente	2,1	siliceo-argilloso
5670	Roma, ten. Fiumicino	8,5	16,4	—	argillo-limoso
5878	S. Polo dei Cavalieri, Pratone di M. Gennaro	6,35	assente	7,0	argilloso
29901	Laiatico Poderino	8,1	8,7	2,3	argilloso
45800	Arborea, pod. Ceron	6,5	assente	1,6	sabbioso
46174	Roma, Pantano Borghese . . .	8,0	tracce	2,6	argillo-sabbioso
48665	Roma-Maccarese, campo 226 .	7,7	tracce	6,4	limoso-umifero
45809	Arborea, pod. Barbisan . . .	6,7	assente	1,0	sabbioso

Nella seguente tabella II sono riferiti i risultati delle determinazioni del manganese ricavato con vari mezzi di estrazione per contatto di 24h dopo 1h di agitazione meccanica:

Tabella II

Determinazione delle varie forme di manganese, espresso in p. p. m. di MnO

Numero del terreno	Manganese scambiabile		Manganese attivo	
	con acetato ammonico N/1	con acido acetico N/2	con acetato ammonico + idrochinone	con acetato ammonico + tiosolfato
2610	66,1	80,6	86,7	59,9
2536	171,4	196,3	878,0	48,5
5670	62,6	—	171,5	185,9
29901	21,9	43,7	393,2	142,0
45800	tracce	tracce	2,2	tracce
46174	0	12,4	163,2	5,2
48665	14,5	120,0	465,0	555,8

Dai dati sopra esposti derivano le seguenti considerazioni:

a) L'estrazione con acido acetico fornisce risultati più elevati rispetto all'acetato ammonico, specialmente in terreni a reazione alcalina, confermando l'ipotesi di McCool secondo la quale verrebbero da tale reagente attaccate anche le forme non scambiabili.

b) È evidente che, in seguito all'aggiunta di idrochinone e quindi in seguito a riduzione, le quote di ossido manganoso estratte dall'acetato ammonico aumentano considerevolmente: le cifre sopra esposte si riferiscono ad estrazioni eseguite per contatto di 24 ore del terreno con la soluzione estrattiva riducente.

c) Il tiosolfato sodico ha dimostrato nelle prove eseguite una azione riducente sensibilmente inferiore a quella dell'idrochinone, contrariamente a quanto affermato dal Leeper, tranne per un terreno a sensibile reazione alcalina. Risulterebbe pertanto che l'effetto del tiosolfato si produce su un minor numero di forme ossidate, onde si giunge ad escludere l'utilità del suo impiego per la valutazione del « manganese attivo » totale.

Le esperienze intraprese al fine precedentemente accennato, di distinguere nella quota del « manganese attivo » le due forme scambiabile e facilmente riducibile, sono state eseguite dallo scrivente praticando la duplice successiva estrazione, sullo stesso terreno, con acetato ammonico prima e con lo stesso addizionato di idrochinone poi. Per questa seconda estrazione, si è provato ad adottare il tempo di contatto, come nelle prescrizioni di Leeper, della durata di 30 minuti primi. I risultati conseguiti vengono riportati nella tabella III:

Tabella III

Determinazione delle varie forme del «manganese attivo» mediante duplice estrazione in p. p. m. di MnO

Numero del terreno	Manganese scambiabile con acetato ammonico	Manganese facilmente riducibile con acetato ammonico + idrochinone (contatto di 30′)	Totale delle precedenti determinazioni «manganese attivo»	«Manganese attivo» determinazione globale (contatto 24h)
2610	74,4	14,5	88,9	86,7
2536	171,4	480,3	651,7	878,0
5670	62,0	144,6	206,6	171,5
29901	15,5	361,5	377,0	393,2
45800	3,2	tracce	3,2	2,2
48665	12,4	299,7	312,1	464,9
45809	13,4	45,4	58,8	63,0
5878	41,3	186,0	227,3	—

Come risulta chiaro nel paragone fra i dati delle due ultime colonne, il prolungamento del tempo di contatto, da 30′ a 24h, comporta solo in alcuni casi un sensibile aumento nel manganese estratto, presumibilmente ciò nei terreni ove prevalgono forme maggiormente ossidate.

In questi casi un tempo di contatto più lungo determina un ulteriore incremento nella quota estraibile, come è risultato nelle seguenti prove:

Tabella IV

Variazioni nel «manganese riducibile» ricavato a diversi tempi di contatto

Numero del terreno	Tempo di contatto	Manganese attivo p.p.m. di MnO
2536	30′	480,3
	24h	878,0
	7d	930,0
5670	30′	144,6
	24h	171,5
	7d	174,6
2610	30′	14,5
	24h	86,7
	7d	103,3

Al fine di constatare se, dopo aver raggiunto un equilibrio, si vengano a sottrarre dall'estrazione ulteriori quote di manganese riducibile, su uno stesso terreno usato nel trattamento dopo il contatto di 7 giorni,

è stata praticata una nuova estrazione con acetato ammonico e idrochinone, col tempo di 30', e si sono ottenuti i seguenti valori di MnO:

Terreno n. 5636 p.p.m. 50,0.
» » 5670 » 70,2.

Ciò fa pensare che l'estrazione del manganese facilmente riducibile non può portare a valori stabili nel tempo e che pertanto la determinazione ha soltanto un valore convenzionale, onde i risultati debbono essere riferiti alle condizioni di esperienza, che è opportuno precisare ai fini della comparabilità dei risultati stessi.

Metodo proposto per la determinazione delle forme assimilabili del manganese nel terreno

In base alle ricerche sopra riferite vengono formulate le seguenti prescrizioni per la determinazione del manganese assimilabile adottate per l'elaborazione dei dati più avanti riferiti relativi ad alcuni terreni tipici italiani.

In una bevuta da cc. 500 gr. 10 di terreno secco all'aria e campionato al vaglio di 2 mm., vengono addizionati di cc. 200 di soluzione di acetato ammonico N/1, preparata mescolando volumi eguali di soluzioni N/2 di ammoniaca e acido acetico e portata successivamente a pH 7 con le opportune aggiunte del reattivo deficitario. Il liquido dopo un'ora di agitazione meccanica e 24 di riposo si decanta su imbuto di Buchner alla pompa (filtri n. 5893) ed il terreno si lava in tre riprese per decantazione con altri 200 cc. di soluzione. Sul filtrato (A) si determina, come è appresso indicato, il manganese scambiabile. Dopo aver trasferito il filtro nella bevuta, vi si aggiungono cc. 200 di acetato ammonico N/1, addizionati di gr. 0,4 di idrochinone, si agita fortemente in più riprese e dopo circa mezz'ora (la durata del contatto è prevista di 30', compreso il tempo necessario per la filtrazione) si filtra per aspirazione, e si lava nuovamente in tre riprese con la soluzione di acetato ammonico. Sul filtrato B si determina il manganese facilmente riducibile.

Per entrambi i filtrati si procede nel seguente modo:

Il liquido viene evaporato in capsule di porcellana su bagno-maria e seccato su bagno di sabbia il residuo si riprende con cc. 10 di acido solforico conc. e si trasferisce in palloncino Kjeldahl unitamente a piccole porzioni di acqua, con le quali viene lavata la capsula.

Il palloncino si pone su piccola fiamma onde evaporare dapprima l'acqua indi distruggere le sostanze organiche ed allontanare la minima parte dell'acido cloridrico proveniente da eventuali cloruri. Dopo raffreddamento si diluisce con acqua e attraverso filtro da solfato di bario si porta in pallone tarato da cc. 100 ove si aggiungono le acque di lavaggio fino ad un volume di 60-70 cc.

Si aggiungono ora cc. 10 di $AgNO_3$ al 3‰ e circa 1 gr. di persolfato ammonico. Il palloncino viene riscaldato su b.m. fino ad incipiente colorazione rosa, indi

si lascia raffreddare, mentre continua lo svolgimento delle bollicine di ossigeno. A reazione ultimata, e previo raffreddamento, si porta a volume con acqua e si esegue la lettura al fotometro.

Se il liquido si mostra assai colorato è utile diluirlo adeguatamente con acqua e procedere poi ad una successiva ossidazione con aggiunta di nuovo persolfato.

Dalle letture colorimetriche si risale al contenuto in p.p.m. di ossido manganoso per 100 gr. di terra, in base ad una curva campione ottenuta precedentemente con soluzioni a titolo noto di $KMnO_4$.

Determinazioni del manganese assimilabile di alcuni terreni italiani

Le conoscenze circa il manganese nei terreni italiani sono finora limitate a non molti dati sul contenuto solubile negli acidi forti.

A. Contini (24) nel 1911 eseguì la determinazione del manganese solubile in acqua regia in una ventina di terreni dell'Italia meridionale: altri dati sporadici si trovano in varie memorie descrittive di alcuni terreni italiani (25), oltrechè in ricerche di O. T. Rotini (26). I. Giglioli (27) e poi G. Leoncini (28) presso l'Università di Pisa hanno effettuato prove di concimazioni con sali manganese, tuttavia senza alcun riferimento alle disponibilità dell'elemento nei terreni in prova.

Oltre ai dati riferiti nelle precedenti tabelle, e che riguardano otto terreni italiani, sui quali sono state compiute le indagini comparative, sembra opportuno riportare nella seguente tabella V i dati sul contenuto di manganese assimilabile, distinti per le diverse forme, ricavati su altri campioni di terreno:

Per i seguenti terreni (vedi tabella VI) data l'esiguità del loro contenuto in manganese si è creduto opportuno effettuare l'estrazione prolungando 24^h il contatto dei campioni con la soluzione al 0,2 % di idrochinone in acetato ammonico N/1.

Alcune considerazioni provengono dall'esame delle tabelle V e VI:

a) Una prima distinzione di massima fra terreni meno forniti e terreni ben provvisti di manganese assimilabile può essere fatta in relazione al loro grado di reazione. Infatti mentre molti terreni acidi e subacidi si sono dimostrati meno forniti di MnO « attivo » (scambiabile e facilmente riducibile quelli a reazione subalcalina esaminati ne possiedono da circa 150 fino ad oltre 700 p.p.m.

b) Fra i terreni a diversa reazione, inoltre, e salvo qualche eccezione, si nota un differente rapporto fra il contenuto scambiabile e quello facilmente riducibile. Nei terreni privi di calcare, subacidi od

Tabella V

Il manganese scambiabile e facilmente riducibile di alcuni terreni italiani

Numero del campione	Località	Natura del terreno	pH	Humus	Doppia estrazione	
					Mn Scam.	Mn fac. riduc.
45809	Arborea (Cagliari)		6,7	1,0	13,4	45,4
48720	Maccarese (Roma)	sabbioso	8,4	0,09	13,2	694,0
48721	Maccarese (Roma)	sabbioso	8,4	0,08	26,8	153,0
50613	Maccarese (Roma)	argillo–sabbioso	8,0	3,0	18,6	264,5
50614	Maccasese (Roma)	argillo–sabbioso	7,6	3,0	5,2	210,6
50626	Maccarese (Roma)	sabbioso	7,1	0,08	12,4	454,5
50627	Maccarese (Roma)	sabbioso	8,2	0,05	16,0	434,0
31828	Ronco all'Adige	limo–sabb. (m. sciolto)	8,0	2,5	27,3	180,8
21697	Reggio Calabria	siliceo castano scuro	5,5	2,6	24,8	18,6
21687	Bolgheri (Pisa)	sabb. legg. argilloso	8,1	0,54	tracce	335,7
3698	Acri (Sila)	siliceo–sabbioso	6,2	1,8	20,7	12,4
31860	Monte Urano (Ascoli Piceno)	argilloso	7,4	3,4	8,3	377,9
3712	Cotronei (Sila)	sabbioso–siliceo	7,8	1,2	19,6	281,9
5385	Grammichele (Caltagirone)	sabb. legg. argilloso	8,1	2,6	15,5	194,2
5397	Troina (Enna)	argilloso	8,0	5,0	tracce	134,3
5475	Isola Capo Rizzuto (Catanzaro)	sabbioso	6,2	1,8	16,5	127,0
4182	Latina	argillo–sabbioso	5,8	1,1	30,5	10,6
4186	Latina	sabbioso–argilloso	5,9	1,0	69,7	99,5
4200	Latina	argillo–sabbioso	5,9	3,6	41,3	33,1
28992	Piacenza	limo–argilloso	6,2	2,1	47,5	150,8

Tabella VI

Determinazione di "manganese attivo„ con contatto di 24^h

Numero del campione	Località	Natura del terreno	pH	Ac. amm. + 0,2 % idrochinone 24^h
45800	Arborea (Cagliari)	sabbioso	6,5	2,2
45801	Arborea (Cagliari)	sabbioso	6,6	5,2
45935	Arborea (Cagliari)	sabbioso	6,5	5,2
45936	Arborea (Cagliari)	sabbioso	6,8	10,3
45937	Arborea (Cagliari)	sabbioso	7,3	5,2
45938	Arborea (Cagliari)	sabbioso	6,7	3,1
45939	Arborea (Cagliari)	sabbioso	6,8	4,1
39951	Arborea (Cagliari)	sabbioso	5,9	2,1

acidi, tale rapporto è spesso superiore all'unità; in quelli calcarei subalcalini, invece il rapporto anzidetto è nettamente inferiore, e talvolta tende allo zero. Il differente comportamento è dovuto al fatto che, nei terreni a reazione acida le forme facilmente riducibili del manganese sono molto spesso in quantità esigue, mentre per le ragioni illustrate precedentemente e messe dapprima in evidenza da Leeper è favorita l'esistenza del manganese bivalente, il quale è soggetto ad adsorbimento colloidale. Una tale deduzione, a conferma delle supposizioni di Leeper, è stato possibile fare applicando il metodo della doppia estrazione qui suggerito.

c) Fra i terreni meno forniti di manganese scambiabile sono quelli sabbiosi e argillo-sabbiosi quaternari al quale tipo si riferiscono i campioni prelevati nella Bonifica di Arborea (Cagliari), quelli segnati coi nn. 48720 - 21,50613 - 14,50626 - 27 della Bonifica di Maccarese (Roma), il n. 5475 di Isola Capo Rizzuto (Catanzaro) ed il n. 31860 di Monte Urano (Ascoli Piceno).

d) Contenuti di manganese assimilabile di buona entità od anche molto elevati stando ai primi dati sopra esposti, sono risultati sia nei terreni vulcanici (es. campioni nn. 2536 e 46174) sia in quelli argillosi e sabbiosi delle sedimentazioni marine terziarie (es. nn. 29901, 21687, 31860 e 5385) ed ancora nelle terre di alluvione (es. nn. 31828, 48665, 5670). Per i due ultimi tipi va considerato che trattasi in genere di terreni calcarei, mentre per i primi può presumersi una notevole provvista di minerali manganesiferi.

RIASSUNTO E CONCLUSIONI

Dopo aver riferito sugli sviluppi delle conoscenze intorno al contenuto di manganese nel terreno e discusso sulle varie forme dell'elemento in rapporto alle loro attitudini all'assimilazione da parte delle colture, viene descritto il procedimento analitico, risultato più pratico, per le determinazioni delle forme ritenute utili agli effetti della nutrizione delle piante. Si propone di determinare, sullo stesso peso di terra, accanto al manganese scambiabile, quello facilmente riducibile mediante due successive estrazioni, la prima con acetato ammonico N/1 e la seconda con lo stesso reattivo addizionato dello 0,2 % di idrochinone, anzichè il totale delle due quote, come proposto da altri autori.

Si ricavano in tal modo due parametri l'uno relativo alle disponibilità prontamente accessibili alle colture, l'altro alle riserve utilizzabili

a breve scadenza col concorso di fattori biochimici e colturali che presiedono al bilancio ossido-riduttivo.

Sono riferiti infine alcuni dati di manganese in terreni italiani, determinati per tale via ed esposte alcune deduzioni.

SUMMARY

RESEARCHES ON THE DETERMINATION OF AVAILABLE MANGANESE IN THE SOIL

by Giuseppe Gattorta

The progress in knowledge about the manganese content in the soil is referred to and the availability of the various forms of the element is discussed.

The author describes a practical procedure for the determination of the forms that are considered the most useful for plant nutrition. He proposes to determine the exchangeable Mn and the easily reducible forms in two consecutive extractions, on the same aliquot of soil. For the first determination a neutral solution of ammonium acetate N/1 was used, for the second the same solution with 0,2 p.c. hydroquinone added was employed.

In this way two parameters are obtained, the former expressive of the immediately available Mn, the latter of the reserves available in a short time, with the concurrence of biochemical factors which act on the oxido-reductive balance.

BIBLIOGRAFIA

(1) Bertrand, G. *Bull. Soc. Chim.*, 1924, 35, 1522.

(2) Brencheley, W. E. Inorganic plant poison and stimulants. Cambridge Univ., Press, 1927.

(3) Conner, S. D. *J. Agric. Sci.*, 1928, 15, 321.

(4) Schollenberger, C. J. *Soil Sci.*, 1928, 25, 357.

(5) Metzger, W. H. *Soil Sci.*, 1930, 29, 251.

(6) Piper, C. S. *J. Agric. Sci.*, 1931, 21, 762.

(7) Ruprecht, R. W. and Morse, F. W.; Schollenberger, C J., and Dreibelbis (cfr. Piper, *loc. cit.*).

(8) Heintze, S. G. *J. Agric. Sci.,* 1938, 28, 175.

(9) Steenbjerg, F. *Trans. III Int. Congr. Soil Sci.,* 1935, 1, 198.

(10) Leeper, G. W., *loc. cit.*

(11) Heintze, S. G., and Mann, P. J. G. *J. Agric. Sci.,* 1949, 39, 80.

(12) Vageler, P., u. Woltersdorf, J. *Z. Pflanzenern.* A., 329.

(13) Schermann, G. D., McHargue, J. S., and Hodgkiss, W. S. *Soil Sci.,* 1942, 54, 253.

(14) Leeper, G. W. *Prc. Roy. Soc. Victoria,* 1935, 47, 225.

(15) Mann, P. G. J., and Quastel, J. H. *Nature,* 1946, 158, 154.

(16) Schollenberger, *loc. cit.*

(17) Williams, R. *Journ. Agr. Sci.,* 1928, 18, 439.

(18) McCool, M. M. The effect of various factors on the soluble manganese in soils. *Boyce Thompson Inst. Contribut.,* 1934, 6, 147.

(19) Gisiger, L. *Landw. Jahrb. Schweiz,* 1935, 735-748.

(20) Heintze S. G., *J. Agric. Sci.,* 1946, 36, 227.

(21) Dion, H. G., and Mann, P. J. G. *Ibid.,* 1946, 36, 239.

(22) Heintze, S. G., and Mann, P. J. G. *Ibid.,* 1949, 39, 80.

(23) Ferrari, C. Analisi microchimiche colorimetriche. Bologna, 1947, p. 38.

(24) Contini, I. *Staz. Sperim. Agr. Ital.,* 1911, 64, p. 51.

(25) Vedasi ad es. Bottini, O. La regione vesuviana. *Ann. Sperim. Agr.,* 1933, 12, p. 757; Bottini, O., e Giannico, E. M. I campi e le Isole Flegree. *Ann. Sperim. Agr.,* 1937, 23, p. 113.

(26) Rotini, O. T. *L'Italia Agricola,* 1934, 71, p. 107.

(27) Giglioli, I. *Boll. Quindic. Soc. Agr. Ital.,* 1908, 13, p. 974.

(28) Leoncini, G. *Staz. Sperim. Agr. Ital.,* 1911, 65, p. 224; Id, 1904, 57, p. 974.

Ricevuto il 7 aprile 1950.

STAZIONE SPERIMENTALE DI VITICOLTURA E DI ENOLOGIA
(Direttore: Italo Cosmo)
CONEGLIANO

Italo Cosmo

ULTERIORI INDAGINI SUI VINI ROSATI E CERASUOLI DELLE VENEZIE

In una precedente nota * ho esposto le ragioni che avevano suggerita un'indagine sui vini rosati delle Venezie ed ho dato notizia dei risultati conseguiti sui campioni all'uopo preparati e raccolti nella vendemmia 1946, traendo le conclusioni a cui tali risultati hanno consentito di pervenire.

Le indagini, come ho fatto presente in quell'occasione, avrebbero ulteriormente proseguito; il lavoro venne difatti ripreso nella successiva vendemmia 1947 per essere completato con qualche altro campione di quella 1948. Su queste ulteriori indagini espongo ora le relative risultanze.

Prima desidero però segnalare che, nel frattempo, la preparazione dei vini rosati è andata assumendo nelle Venezie una crescente diffusione, confermando così quanto avevo in precedenza potuto constatare e confermando altresì l'interesse che in seguito a particolari studi avrebbe potuto derivarne, sotto il profilo tecnico ed economico, al migliore orientamento della produzione vinicola della regione. Dopo la ricordata pubblicazione — che venne ampiamente riassunta e commentata da qualche giornale tecnico locale — non sono infatti mancate spontanee segnalazioni di adesione al nuovo orientamento da parte di alcune aziende agrarie e cantine sociali; adesioni dettate dal tornaconto economico riscontrato destinando una parte delle uve rosse alla produzione di vini rosati (o cerasuoli), in quanto apparsi più richiesti o meglio quotati di quelli normali: aspetti, questi, da non sottovalutare, particolarmente nei momenti di crisi vinicola. Così

* Cosmo, I. I vini rosati nelle Venezie. Risultati di un'indagine tecnica. *Ann. Sperim. Agr.*, 1948, n. s., II.

come non sono mancate, da parte di altri, desiderosi di seguire l'esempio dei primi, richieste di notizie e suggerimenti in merito all'impiego delle varietà di uve più adatte alla nostra produzione e al governo della fermentazione alcoolica.

Questa seconda serie di indagini ha interessato 25 campioni preparati in 8 provincie, compresa tra queste quella di Padova che nella prima serie rimase esclusa. Da questa provincia si sono tuttavia potuti ritirare anche dei campioni di precedenti vendemmie; la scarsa importanza che la produzione enologica riveste nelle provincie di Belluno e Rovigo, mi ha sconsigliato viceversa di ripetere in queste le indagini già condotte nel 1946.

In genere, ogni prova venne compiuta su quantitativi abbastanza o molto rilevanti di uva: 10 q.li in un caso, 30–40 q.li in pochi altri, da 100 a 400 q.li nella maggior parte dei rimanenti fatta eccezione di due casi: uno di 1400 q.li ed un secondo di 30.000 q.li (trattasi di una grande cantina sociale, che da vari anni produce già notevoli quantitativi di vini rosati conseguendo, grazie anche alla razionale tecnica enologica adottata, soddisfacenti risultati).

Presso qualche azienda la prova venne compiuta in duplo: la stessa materia prima, cioè, venne in parte vinificata secondo la precedente consuetudine onde ottenere un normale vino rosso ed in parte invece per ottenere un vino rosato.

Un campione di vino rosato, infine, ci è stato cortesemente fornito da un produttore leccese; se non altro a titolo di raffronto con i « rosati » veneti esporrò anche per questo i dati analitici ottenuti ed il giudizio collegialmente emesso in sede di esame organolettico *.

I campioni di vino vennero ritirati sul finire dell'inverno, inizio della primavera, ossia dopo che il prodotto aveva subìto un paio di travasi; vennero quindi passati al saggio organolettico e, subito dopo, all'analisi chimica: al primo si è sempre dato la precedenza affinchè il relativo giudizio non risultasse in alcun modo influenzato dalla composizione chimica.

---

* La parte analitica venne eseguita, sotto il controllo dell'aiuto–direttore dell'Istituto, dott. L. Gentilini, dal dott. E. Carli e dall'enot. P. Giacomini; il saggio organolettico venne compiuto dallo scrivente coadiuvato dai dottori E. Carli e G. Manzoni e dall'esperto enot. G. Celoti. A tutti i su citati collaboratori, nonchè agli ispettori agrari ed ai privati che cortesemente si prestarono all'esecuzione delle prove, sento il dovere di rinnovare anche in questa occasione i più vivi ringraziamenti.

BREVI NOTIZIE SULLA VINIFICAZIONE E GIUDIZIO ORGANOLETTICO SUI VINI OTTENUTI DALLE SINGOLE PROVE

1) Bolzano (loc. Rauchenhof).

Partita di uva di «Lagrein» prodotta nel 1947 nelle vicinanze di Bolzano da viti di 20 anni di età innestate su « Berl. × Rip. Kober 5 BB » e « Riparia Gloire » ed allevate a pergola su terreno di medio impasto; l'uva è stata vinificata completamente « in bianco ».

VINO: brillante, di color rosa mediamente intenso (un po' troppo scarico); odore vinoso con leggero profumo gradevole; sapore asciutto, sembra caldo, un po' povero di corpo, gradevolmente amarognolo, abbastanza armonico e sapido. Ottimo vino rosato (voto 9).

2) Bolzano.

Partita di uva c. s. prodotta nel 1947 da altra località nelle immediate vicinanze di Bolzano da viti di 15 anni di età innestate su « Riparia » ed allevate a pergola su terreno di medio impasto; l'uva è stata vinificata « in bianco ».

VINO: brillante, colore rosa pallido (un po' troppo scarico di tinta); odore intenso di H_2S; sapore di H_2S, asciutto, frizzante, abbastanza alcoolico, gradevolmente amarognolo, armonico.

A parte il difetto occasionale, più che buon vino rosato (voto 8½).

3) Bolzano.

Partita di uva « Malvasia nera » prodotta nel 1947 nelle vicinanze di Bolzano da viti di 20 anni di età innestate su « Berl. × Rip. Kober 5 BB » ed allevate a pergola su terreno di medio impasto; l'uva è stata vinificata con breve contatto delle bucce col mosto.

VINO: brillante, colore cerasuolo chiaro; odore leggero di feccia che maschera qualsiasi altra caratteristica; sapore asciutto, caldo, giustamente di corpo e acido, gradevolmente amarognolo, armonico (un po' di feccia).

A parte il leggero difetto occasionale, ottimo campione di vino rosato (voto 9½).

4) Mezzocorona (Trento).

Prova su 200 q.li di uva « Teroldego » prodotta nel 1947 nella zona compresa fra il torrente Noce e la ferrovia, da viti di 10–20 anni d'età innestate su « Rip. × Rup. 101.14 » e « Schwarzmann » ed allevate a pergola.

L'uva venne ammostata con pigiatrice–diraspatrice e posta a fermentare per qualche giorno con le bucce previa aggiunta di 20 gr. di K metabisolfito per q.le. Si è pertanto ottenuto un campione di vino di colorazione normale, che può servire di raffronto con quello rosato, ottenuto da una partita d'uva, pure di « Teroldego », vinificata « in bianco », nell'attiguo comune di:

5) Mezzolombardo (Trento).

VINO (normale): brillante, con bollicine; colore rosso rubino intenso e abbastanza vivo; odore spiccato e caratteristico del « Teroldego », con leggero

profumo etereo; sapore asciutto, leggermente frizzante, di corpo, rotondo, vellutato, amarognolo spiccato, gradevole, caratteristico.

Ottimo vino rosso fino da pasto (voto 9).

VINO (rosato): brillante con qualche bollicina; colore rosato abbastanza vivo; profumo delicato, gradevole, caratteristico; sapore pressochè asciutto, leggermente frizzante, poco tannico, caldo, giustamente di corpo, amarognolo, gradevole, caratteristico.

Ottimo campione di vino rosato (voto 9).

6) S. Michele all'Adige (Trento).

Questa prova ha interessato una partita di 400 q.li d'uva di cui il 40 % era rappresentato da « Schiava », il 25 % da « Merlot », il 20 % da « Teroldego » ed il restante 15 % da « Rossara ». L'uva, della vendemmia 1947, proveniva da viti di 7–15 anni d'età, coltivate in collina su terreno argillo–calcareo, innestate su « Berl. × Rip. Kober 5 BB » e « Teleki » ed allevate secondo il classico sistema a pergola trentina.

Dopo l'ammostatura, eseguita con una pigiatrice–diraspatrice, la massa ottenuta venne posta a fermentare, previa aggiunta di 20 gr. per hl. di K metabisolfito, per metà totalmente in bianco — separandovi le bucce — e per metà in presenza delle bucce per 48 ore.

Dopo la separazione delle bucce da questa seconda parte i due mosti in fermentazione vennero riuniti per essere svinati alla distanza di 7–8 giorni dall'inizio della lavorazione. Un arieggiamento nel corso del processo fermentativo e due travasi, uno a dicembre e l'altro a marzo, completarono il ciclo lavorativo.

VINO: brillante, di colore tra il rosso cerasuolo ed il rubino chiaro; sapore asciutto, giustamente di corpo e acido, poco tannico, armonico, gradevolmente amarognolo. Ottimo vino cerasuolo fino (voto 9).

7) Trento.

Prova su 1400 q.li di uva « Merlot » (40 %), « Schiava » (30 %) e « Teroldego » (30 %) prodotta durante la campagna 1947 nei dintorni di Trento da viti innestate di varia età. L'uva venne ammostata con pigiatrice–diraspatrice e la massa fu posta a fermentare per 24–48 ore in presenza delle bucce, previa aggiunta di 20 gr. di K metabisolfito per hl. di prodotto.

VINO: brillante, di bel colore rosato cerasuolo; spiccato profumo gradevole; sapore asciutto, giustamente tannico e di corpo, leggermente frizzante, amarognolo, gradevole.

Gradevole campione di vino rosato (voto 8½).

8) Rovereto (Trento).

Prova su 450 q.li di uva « Marzemino » (60 %), « Lambrusco » (20 %) e « Negrara » (20 %) prodotta durante la campagna 1947 a Lizzana e nel comune di Volano, poco più a nord di Rovereto, da viti di 10–15 anni d'età innestate su « Riparia Gloire » e « Rip. x Rup. Schwarzmann », allevate a pergola e coltivate su terreno calcareo–siliceo.

Pigiata l'uva con una diraspatrice Garolla e separate le bucce a mezzo di sgrondatore, il mosto venne posto a fermentare (in bianco) previa aggiunta di 15 gr. per hl. di K metabisolfito; la fermentazione si è svolta in 8–10 giorni.

Vino: limpidissimo con bollicine; bel colore rosato giustamente intenso; profumo leggero ma gradevole; sapore asciutto, leggermente frizzante, fresco, giustamente di corpo, gradevolmente amarognolo. Ottimo campione di vino rosato (voto 9).

9) Avio (Trento).

Prova su 300 q.li d'uva « Marzemino », « Teroldego » e « Lambrusco » (in parti eguali) prodotta durante la vendemmia 1947 ad Avio da viti di 12 anni d'età, innestate su « Berl. × Rip. Kober 5 BB », allevate a pergola e coltivate su terreno di natura calcarea. La fermentazione del mosto (svoltasi in 7 giorni) è avvenuta in assenza completa di vinacce, che vennero separate subito dopo di aver pigiato l'uva con una diraspatrice Garolla; nel mosto vennero aggiunti 20 gr. di K metabisolfito per hl. e 10 gr. di solfato ammonico.

Vino: brillante, di un bel colore rosato; leggerissimo profumo; sapore asciutto, non molto di corpo, poco tannico, vellutato, sapido, gradevole.

Più che ottimo campione di vino rosato (voto 9½).

10) Verona.

Prova su 10 q.li di uva « Corvina » (50 %), « Molinara » (30 %), « Corvinone » (10 %) e « Negrara » (10 %) prodotta durante la vendemmia 1947 a Marzana Valpantena da viti di 25 anni d'età, innestate su « Berl. x Rip. 420 A », allevate a pergola e coltivate in terreno argilloso-calcareo.

Pigiata l'uva con la pigiatrice-diraspatrice Garolla, il mosto venne posto a fermentare per 24 ore con le bucce, previa aggiunta di 15 gr. per q.le di K metabisolfito.

Vino: limpido con bollicine; colore rosa chiaro (un po' troppo scarico di tinta); odore non netto (di H_2S); sapore asciutto, frizzante, un po' fresco, non molto di corpo, poco sapido, nel complesso piuttosto « scarno ».

Può sembrare un appena discreto vino bianco passato in una botte che aveva contenuto del vino rosso (voto 7 —).

11-12) Mossano (Vicenza).

Un'unica partita d'uva « Cabernet franc » prodotta nella vendemmia 1948 a Montruglio di Mossano da viti di 17 anni innestate su « Berl. x Rip. 420 A », allevate a pergola e poste in terreno argilloso, venne ammostata con pigiatrice-diraspatrice Garolla; dopo aver aggiunto 10 gr. per hl. di K metabisolfito, una parte venne posta a fermentare per circa 3 giorni con le bucce e l'altra completamente in bianco avendo separato le bucce a mezzo di un comune torchio a mano.

A metà novembre ed a metà dicembre vennero eseguiti, su entrambi i vini, due travasi. I campioni di vino, ritirati nel febbraio 1949, vennero passati all'analisi sommaria nel mese di marzo dopo di essere stati sottoposti all'esame organolettico.

Vino (ottenuto dalla fermentazione in bianco): brillante e di colore rosa un po' troppo scarico; gradevole fragranza vinosa che ricorda il « Cabernet »; sapore quasi asciutto, abbastanza alcolico e di corpo, giustamente acido, leggermente erbaceo.

Nel complesso, buon tipo di vino rosato, che sarebbe stato migliore se fosse risultato un po' più carico di tinta (voto 8 —).

Vino (ottenuto dalla fermentazione con bucce): brillante; colore rosso rubino intenso con orli violacei; odore intenso, gradevole e caratteristico del vitigno; sapore asciutto, un po' tannico, non molto di corpo ma abbastanza alcolico, un po' molle, intensamente erbaceo, gradevole e caratteristico. Nel complesso ottimo tipo di Cabernet (voto 9 —).

13–14) Vigonza (Padova).

Prova (n. 13) su 300 q.li di uva « Merlot » prodotta nelle vendemmie 1945 e 1946 a Peraga di Vigonza da viti di 20 anni d'età, innestate su « Berl. × Rip. Kober 5 BB », allevate a raggio e poste in terreno di medio impasto, tendente all'argilloso, piuttosto fresco.

In entrambe le vendemmie dopo aver ammostato l'uva con la pigiatrice–diraspatrice Garolla, il mosto venne messo a fermentare per 24 ore con le bucce previa aggiunta di 15 gr. per hl. di K metabisolfito. Il vino del 1945 (conservato in fusti di legno) venne successivamente unito a quello del 1946.

Nella vendemmia 1947 la prova (n. 14) ha interessato 400 q.li di uva ottenuti dalle medesime viti; la vinificazione non ha diversificato da quelle precedenti.

Vino (1945–46): velato, di colore rosato–mattone smorto; profumo intenso di vino vecchio; sapore asciutto, amaro intenso (di vino ossidato), abbastanza alcolico e giustamente acido, nel complesso però non molto gradevole anche perchè spicca un po' l'acidità volatile.

Tipo di vino rosato ormai stravecchio e non troppo gradevole (voto 6 ½).

Vino (1947): brillante; bel colore rosato; gradevole odore di fruttato; sapore pressochè asciutto, abbastanza di corpo, giustamente acido, pochissimo erbaceo, gradevole.

Ottimo campione di vino rosato (9).

15) Bovolenta (Padova).

Prova su 100 q.li di uva « Merlot » prodotta nella vendemmia 1946 da viti coltivate su terreno di medio impasto tendente allo sciolto, di 16 anni di età, innestate su « Berl. × Rip. Kober 5 BB » ed allevate a raggio.

L'uva venne pigiata con diraspatrice Garolla e la massa ottenuta, addizionata di 20 gr. per hl. di K metabisolfito, venne posta a fermentare per 24 ore con le bucce.

Vino: quasi limpido, di colore rosato chiaro; profumo etereo ed un po' marcato nell'acidità volatile; sapore asciutto, non molto di corpo, giustamente acido, un po' amarognolo non gradevole.

Nell'insieme poco più che discreto vino rosato (voto 7 ½).

16) Bovolenta (Padova).

Prova su una partita d'uva « Raboso Veronese » ottenuta nella vendemmia 1947 a Gorgo di Bovolenta da viti di 10 anni d'età, innestate su « Berl. × Rip. Kober 5 BB », allevate a raggio e coltivate su terreno tendente all'argilloso, piuttosto fresco.

L'uva venne passata al torchio continuo ed il mosto fu posto a fermentare completamente in bianco, previa aggiunta di 15 gr. per hl. di K metabisolfito.

Vino: brillante con bollicine; colore tra il rosso rubino ed il cerasuolo vivo; odore vinoso; sapore asciutto, acido, abbastanza di corpo ma disarmonico, nel complesso non troppo gradevole.

Mediocre campione di vino rosato (voto 6).

17) S. Donà di Piave (Venezia).

Prova su circa 30.000 q.li di uva « Raboso Veronese » prodotta nella vendemmia 1947 da viti di varia età, innestate su portinnesti diversi ed allevate a « cassone » od a spalliera (Sylvoz–raggio), della zona del mandamento di S. Donà di Piave.

L'uva venne ammostata con la pigiatrice–diraspatrice e addizionata da 5 gr. per hl. di SO_2 liquida; una parte fu quindi torchiata dapprima col torchio continuo e poi con quello idraulico ponendo il relativo mosto a fermentare in bianco; l'altra parte venne invece posta a fermentare per 36 ore con le bucce, che alla svinatura vennero torchiate col torchio idraulico. Solo il mosto della prima torchiatura venne aggiunto alla massa mentre il resto fu vinificato a parte.

In entrambi i casi vennero impiegati fermenti selezionati di un particolare stipite di *Torulaspora rosei* (che già in precedenti vinificazioni aveva dato ottimi risultati); all'inizio della fermentazione lenta venne praticata una leggera disacidificazione.

Vino: brillante, con qualche bollicina; bel colore cerasuolo chiaro; fragranza vinosa, intensa, gradevole e caratteristica (di marasca); sapore asciutto, un po' tannico, giustamente acido e alcolico, caratteristico di marasca.

Buon campione di vino rosato, che sarebbe ancora migliore se fosse risultato un po' più « rotondo » (voto 8 ½).

18–19) Chiarano (Treviso).

Prova su due partite di uva « Raboso Veronese » della vendemmia 1947, la prima (n. 18) di circa 120 q.li e la seconda (n. 19) di circa 330 q.li, prodotte da due attigui vigneti, entrambi con viti innestate su « Berl. × Rip. Teleki », allevate a raggio classico (alla « Bellussi ») e coltivate in terreno argilloso. Unica differenza che nel primo vigneto le viti sono più giovani (5 anni d'età) di quelle del secondo vigneto (10 anni). L'uva venne in entrambi i casi pigiata con diraspatrice Garolla e la massa venne posta a fermentare con le bucce (previa aggiunta di 15 gr. per q.le di K metabisolfito) sino alla formazione del « cappello », che si verificò dopo 18–24 ore.

Vino (prova n. 18): limpidissimo; colore rosso cerasuolo vivo o rubino chiaro; odore vinoso con leggero profumo speciale di marasca (in parte mascherato da un eccesso di acidità volatile); sapore quasi asciutto, abbastanza alcolico, giustamente di corpo, non molto tannico, un po' ricco di acidità volatile, nel complesso abbastanza armonico.

A causa del leggero difetto, poco più che mediocre vino cerasuolo (voto 7 ½).

Vino (prova n. 19): limpidissimo e di colore come il precedente; odore vinoso con profumo gradevole che ricorda la marasca; sapore asciutto, caldo, di corpo e tannico, nel complesso abbastanza armonico e gradevole.

Più che buon tipo di vino cerasuolo non privo di finezza (voto 8 ½).

20) Villorba (Treviso).

Prova su una partita di uva « Cabernet franc » prodotta alle « Castrette » di Villorba nella vendemmia 1947 da viti di varia età, innestate su « Berl. × Rip. 420 A », allevate a Sylvoz ed a raggio e poste su terreno sciolto, alluvionale, grossolano, irrigabile.

Ammostata l'uva con pigiatrice–diraspatrice, la massa venne posta a fermentare con le bucce per 48 ore; dopo la svinatura vennero aggiunti 10 gr. per hl. di K metabisolfito.

Il campione di vino si è alterato per cui non si riporta neppure il relativo giudizio organolettico: dall'esame dei dati analitici (vedi tabella più avanti) una volta ancora, peraltro, emerge l opportunità di far completare in vinificazione la fermentazione alcolica allo scopo di evitare, all'inizio della primavera, qualsiasi ripresa di movimento fermentativo.

21–22) Susegana (Treviso).

Queste due prove ricordano quelle n. 11 e 12; la stessa partita d'uva « Cabernet franc », di complessivi q.li 71, prodotta nella vendemmia 1947 a Collalto di Susegana da viti di 16 anni di età, innestate su « Berl. × Rip. 420 A », allevate con sistema ad archetto tipo Sylvoz e poste su terreno argilloso, venne ammostata con pigiatrice–diraspatrice e addizionata di 10 gr. per quintale di K metabisolfito; una metà della massa fu quindi posta a fermentare per sole 36 ore circa con le bucce e l'altra invece, secondo la consuetudinaria tecnica, per quattro giorni e mezzo, onde porre in rilievo le differenze fra il normale « Cabernet » e quello rosato partendo dalla stessa materia prima.

Vino (rosato): limpido, di colore rosato carico; odore vinoso con leggero profumo caratteristico del « Cabernet »; sapore asciutto, giustamente acido e di corpo, alcolico, morbido, vellutato, sapido e leggermente erbaceo, caratteristico del « Cabernet ».

Ottimo campione di vino rosato fino (voto 9 ½).

Vino (normale): brillante, di un bel colore rosso rubino vivo; profumo intenso, gradevole e caratteristico del «Cabernet»; sapore asciutto, un po' tannico, giustamente acido e di corpo, caldo, amarognolo, erbaceo caratteristico.

Ottimo campione di « Cabernet » fino, suscettibile di diventare superiore dopo un adeguato invecchiamento (voto 9).

23) Susegana (Treviso).

Prova su 40 q.li di uvá « Cabernet franc » e « Wildbaker » in parti eguali, prodotta nella vendemmia 1947 da vecchie viti innestate su « Berl. × Rip. Kober 5 BB », coltivate in terreno calcareo–argilloso della località Castello ed allevate con il sistema Sylvoz.

Ammostata l'uva con pigiatrice diraspatrice Garolla, la massa venne posta a fermentare con le bucce per 12 ore (fino al sollevamento del « cappello »), previa aggiunta di 8 gr. di SO_2 liquida per hl.

Vino: brillante con bollicine: colore rosato un po' scarico e smorto; profumo non molto intenso ma gradevole e delicato; sapore quasi asciutto, un po' frizzante, vivace, abbastanza di corpo, sapido, leggermente amarognolo, gradevole.

Ottimo campione di « rosato » fino, che sarebbe riuscito ancor più perfetto se fosse stato un po' più carico di tinta (voto 9).

24–25) S. Giovanni al Natisone (Udine).

Da una cantina del Friuli ci sono stati forniti due campioni di vino (contrassegnati A e B e da me contaddistinti con i nn. 24 e 25) prelevati da due masse ottenute con uve delle zone di Corno di Rosazzo (Cividalese) e del Collio Friulano e lavorate come segue: l'uvaggio rosso di collina (in prevalenza uve di « Merlot ») pigiato, diraspato e posto a fermentare con le bucce; prima che fosse ultimata la fermentazione tumultuosa si è proceduto alla svinatura ed il mosto–vino venne mescolato (nella proporzione di 2:1) con del mosto–vino di un uvaggio rosso di pianura (costituito in prevalenza da « Refoschi » ed un quinto di uvaggio bianco) fermentato in bianco: la fermentazione lenta ebbe così luogo in comune.

Nel corso della lavorazione vennero aggiunti 30 gr. per hl. di neosolfito Sch., per metà alla pigiatura e per metà all'atto del taglio (dopo la fermentazione tumultuosa) delle due masse. A detta del proprietario, i vini rosati così ottenuti hanno incontrato il gusto dei consumatori assai più dei soliti tipi rossi.

Vino (A): limpidissimo, di colore cerasuolo chiaro un po' smorto; buona fragranza gradevole ma che non ricorda il Merlot; sapore asciutto, un po' frizzante, non molto di corpo, giustamente armonico e acido, nel complesso abbastanza gradevole ed armonico.

Buon tipo di vino rosato (voto 8).

Vino (B): limpidissimo, di colore cerasuolo chiaro un po' smorto; buona fragranza come nel precedente campione, in parte però mascherata da un leggero odore di feccia; sapore che ricorda molto quello del vino precedente, ma un po' meno gradevole per la stessa ragione ricordata per l'odore.

Campione simile al precedente ma un po' meno gradevole perchè di odore e sapore non del tutto netti (voto 7½).

26) Surano (Lecce).

Questa prova, inclusa occasionalmente, ha interessato una partita di 150 q.li d'uva « Negro Amaro » della vendemmia 1947 prodotta a Nociglia di Surano da viti innestate di circa 25 anni di età coltivate in terreno calcareo–argilloso, un po' paludoso.

L'uva venne ammostata con pigiatrice–diraspatrice Garolla ed il mosto separato dalle bucce a distanza di 15 ore, quando cioè la fermentazione risultava già avviata e si era sollevato il « cappello », fu posto a completare da solo la fermentazione (previa aggiunta di 10 gr. di SO_2 per hl.) in fusti da trasporto di circa 7 hl. collocati all'aperto.

Vino: brillante, di un bel colore cerasuolo intenso, quasi rubino, vivo; odore vinoso e alcolico, con leggero profumo speciale; sapore asciutto, caldo, di corpo, leggermente tannico, amarognolo speciale quasi esotico, nel complesso però gradevole.

Buon vino cerasuolo, però un po' troppo « pieno » e colorato come vino rosato (voto 8½).

Analisi chimica dei vini

Numero della prova	Densità $\frac{15°}{15°}$ C	Alcool in volume %	Zuccheri riduttori %	Acidità °/₀₀			Acido tartarico totale °/₀₀	Estratto secco totale °/₀₀	Glicerina °/₀₀	Tannino °/₀₀	Ceneri °/₀₀	Alcalinità delle ceneri N/1 °/₀₀	Fosforo totale (P_2O_5) °/₀₀	Azoto totale °/₀₀	Intensità colorante (Dubosq)	pH
				Totale (acido tartarico)	Valatile (acido acetico)	Fissa (acido tartarico)										
1	0,9928	11,86	—	4,12	0,78	3,17	0,82	19,90	8,20	0,36	2,70	17,20	0,278	0,273	1 : 0,20	3,7
2	0,9923	12,50	—	4,50	0,42	3,98	2,14	20,40	6,20	0,17	2,12	14,36	0,187	0,192	1 : 0,19	3,7
3	0,9923	12,97	—	4,20	0,60	3,45	1,72	21,60	7,02	0,22	2,17	15,62	0,212	0,250	1 : 0,37	3,8
4	0,9932	13,06	—	4,50	0,40	4,00	0,98	24,00	7,41	1,23	2,30	13,56	0,208	0,242	1 : 1,56	3,0
5	0,9913	13,72	—	4,30	0,53	3,64	1,40	21,10	7,42	0,87	2,08	16,24	0,338	0,236	1 : 0,57	3,2
6	0,9943	11,77	—	4,62	0,65	3,81	1,71	23,30	8,17	1,34	2,12	12,37	0,227	0,275	1 : 1,51	3,4
7	0,9946	11,95	—	4,27	0,57	3,56	1,59	24,50	6,94	0,54	1,91	13,32	0,195	0,187	1 : 0,65	2,8
8	0,9926	12,32	—	5,70	0,50	5,08	2,07	20,60	7,42	0,87	1,78	12,65	0,154	0,175	1 : 0,60	3,2
9	0,9937	12,69	—	4,57	0,65	3,76	2,85	24,20	6,05	0,82	1,32	10,78	0,187	0,173	1 : 0,58	3,6
10	0,9934	11,23	—	4,72	0,78	3,77	2,88	19,70	5,85	0,31	1,72	13,05	0,170	0,306	1 : 0,09	3,3
11	—	12,23	—	4,72	0,65	3,91	—	—	—	—	—	—	—	—	1 : 0,32	—
12	—	12,32	—	4,87	0,60	4,12	—	—	—	—	—	—	—	—	1 : 1,85	—
13	0,9932	12,05	—	6,52	1,34	4,85	2,37	21,40	5,84	0,96	1,62	12,20	0,243	0,185	1 : 0,78	3,4
14	0,9999	11,77	—	5,47	0,93	4,31	1,87	20,20	8,56	0,93	1,56	10,78	0,237	0,224	1 : 0,80	3,0
15	0,9942	11,41	—	5,92	1,08	4,57	1,97	22,10	5,20	0,75	1,89	8,90	0,283	0,136	1 : 0,73	3,4
16	0,9963	11,32	—	7,72	0,88	6,62	2,82	26,90	6,63	1,27	1,73	11,65	0,251	0,145	1 : 1,97	3,6
17	0,9937	11,50	—	4,27	0,51	3,64	2,07	21,10	6,72	0,63	2,07	13,87	0,105	0,198	1 : 0,42	2,9
18	0,9920	12,30	—	7,95	1,72	5,80	2,87	19,20	5,83	1,13	1,87	11,14	0,195	0,131	1 : 0,87	3,4
19	0,9917	13,05	—	6,75	0,64	5,95	3,34	20,40	6,07	1,23	1,96	11,67	0,214	0,145	1 : 0,78	3,6
20	0,9940	12,88	0,62	4,27	1,26	2,70	0,84	21,20	7,76	0,41	2,64	14,06	0,275	0,364	1 : 0,95	3,6
21	0,9912	13,91	—	5,17	0,71	4,29	3,18	21,40	6,41	0,50	1,66	12,94	0,276	0,265	1 : 0,61	3,4
22	0,9925	12,88	—	4,42	0,49	3,81	2,32	21,80	9,63	1,43	2,01	13,10	0,280	0,254	1 : 1,55	3,5
23	0,9920	13,72	—	5,32	0,74	4,40	3,06	22,80	12,40	0,53	1,41	12,02	0,256	0,231	1 : 0,42	3,2
24	0,9966	11,23	—	5,90	0,58	5,18	—	27,40	—	—	—	—	—	—	1 : 0,38	3,2
25	0,9945	11,05	—	5,52	0,49	4,91	—	21,80	—	—	—	—	—	—	1 : 0,40	4,2
26	0,9942	13,72	—	6,37	0,83	5,33	1,86	28,10	12,10	1,05	2,04	14,62	0,299	0,232	1 : 1,07	3,6

COMMENTO E CONCLUSIONI

Dall'esame degli elementi raccolti in queste e nelle precedenti indagini si può innanzitutto confermare il fatto che, nelle Venezie, la produzione di vini da pasto rosati e cerasuoli da consumare nella annata trova adatte condizioni di sviluppo e che tale produzione merita di essere incoraggiata almeno fino a quando il mercato conserva l'attuale convenienza economico–commerciale. Tanto più ove si consideri che questo particolare tipo di lavorazione non richiede alcuna nuova attrezzatura, trattandosi soltanto di un problema di tecnica enologica facilmente risolvibile con le comuni dotazioni di cantina.

In particolare va detto che i migliori vini rosati sono apparsi quelli ottenibili nel Trentino–Alto Adige, i quali ad un'ottima composizione chimica abbinano doti di profumo, armonicità e sapidità che li rendono degnamente gradevoli. Ciò vale tanto per i vini ottenuti con uve di singoli vitigni — come il « Lagrein », il « Teroldego » e la « Malvasia nera » — quanto per quelli prodotti con mescolanze di uve di vari vitigni locali (« Schiave », « Teroldego », « Merlot », « Rossara », « Marzemino », « Negrara », ecc.); se mai sarei d'avviso di prepararli un po' più carichi di tinta.

Ottimi vini rosati e cerasuoli si potrebbero pure preparare nelle colline veronesi, dove già si producono dalla vinificazione in comune delle uve dei vitigni locali (« Corvina », « Molinara », « Negrare », « Rossignola », « Rondinella », ecc.), frammiste o meno a modeste percentuali di uve di vitigni d'importazione (« Barbera », « Sangiovese », ecc.), dei vini piuttosto scarichi di tinta, pochissimo tannici, non molto di corpo ma gradevolmente profumati. Il noto « Bardolino », vino assai prossimo a quelli di cui qui ci si occupa, può essere del resto citato ad esempio; non si tratterebbe, volendo, che di prepararlo un po' più chiaro di tinta attraverso un semplice minore contatto delle bucce col mosto durante la fermentazione alcolica. Dal momento però che esso gode (così come gli altri vini delle contermini vallate veronesi) una reputazione ed un avviamento commerciale tutt'altro che trascurabili, non ritengo che convenga modificarne l'attuale « fisionomia » a cui deve la sua affermazione.

Nelle restanti provincie venete (Friuli compreso) nelle quali la preparazione di tipi « rosati » e « cerasuoli » è più recente che nell'Alto Adige, il problema cambia invece aspetto, chè il nuovo indirizzo, mentre da un lato può consentire favorevoli ripercussioni economico–

commerciali, dall'altro permette di sfruttare certe materie prime da vini piuttosto grossolani e senza pregi speciali, per produzioni di vini assai più gradevoli e ricercati perchè non privi talvolta anche di finezza. È questo il caso soprattutto dei « Rabosi » (in particolare del « Raboso Veronese ») diffusi nelle zone di piano di molte provincie (Vicenza, Padova, Rovigo, Venezia e Treviso) e dei « Refoschi » del Friuli.

Come ho già fatto presente nella mia prima nota su questo argomento, non reputo quindi opportuno destinare alla preparazione di vini rosati o cerasuoli le uve di vitigni notoriamente di pregio, come il « Pinot nero » ed i « Cabernets » (« Franc » e « Sauvignon »), da cui si possono ottenere degli ottimi vini superiori da pasto; d'altra parte, la piuttosto limitata diffusione di questi vitigni di fronte a quelli più sopra ricordati ed in particolare modo di fronte ad un altro vitigno, il « Merlot », che va sempre più estendendosi, non deve destare preoccupazioni. È sulla massa che conviene puntare e quest'ultima ha dimostrato di prestarsi egregiamente allo scopo.

Dalle prove compiute non si possono ovviamente trarre delle norme fisse per quanto concerne certi problemi tecnici, nè questo era lo scopo essenziale delle mie indagini. Così la durata della fermentazione in presenza delle bucce o di una parte soltanto di queste piuttosto che la fermentazione « in bianco », costituisce un aspetto che dovrà valutarsi di anno in anno (pur avendo a che fare con uve della o delle stesse varietà, prodotte dai medesimi vigneti) diverso potendo presentarsi da un anno all'altro il loro stato di maturazione, la loro composizione e così via.

Alla pigiatura il tecnico potrà in ogni modo appurare se il mosto si presenta sufficientemente colorato o meno e da ciò dedurre la convenienza a far iniziare il processo fermentativo con le bucce oppure senza e, nel primo caso, la durata del contatto. Da sconsigliare in ogni caso è la presenza anche dei raspi: trattandosi di vini che in genere devono presentare non troppo « estratto » ed una moderata acidità totale, è più facile avvertire in detti vini un eccesso di asprezza o di tannicità, quale appunto risulterebbe vinificando con bucce non diraspate.

Se il mosto fosse invece troppo colorato potrà essere preventivata una leggera decolorazione con i comuni carboni oppure un taglio con mosti di uve bianche, al fine di ottenere il colore richiesto. Il quale non deve risultare troppo pallido e comunque tale da dar l'impressione che si possa trattare di un vino bianco riposto in botte che aveva contenuto del vino rosso.

Se alla vendemmia le uve dovessero risultare troppo acide, caso comune per i « Rabosi », si dovrà provvedere ad una adeguata disacidificazione dei mosti in modo da ottenere un vino con acidità totale aggirantesi sul 5 %: piuttosto meno che più. Se, viceversa, risultassero troppo poco acide, caso abbastanza frequente per le uve di « Merlot », si procederà ad una acidificazione. A meno che non si abbiano a portata di mano uve dei due tipi (molto o poco acide) in quantità sufficente per una compensazione reciproca dell'acidità attraverso una vinificazione in comune o successivi tagli.

In linea generale può dirsi che, nei migliori vini rosati e cerasuoli delle Venezie, la proporzione media dei principali componenti è così risultata:

Alcool	%	12	(con estremi di 11 e 13: non è però necessario superare i 12°)
Acidità totale	°/₀₀	5	(con estremi compresi fra 4 e 6)
Estratto	°/₀₀	21	(con estremi compresi fra 19,50 e 22,50)
Glicerina	°/₀₀	7	(con estremi di 6 e 8)
Tannino	°/₀₀	0,6	(con estremi di 0,3 e 0,9).

L'intensità colorante (al Dubosq) dovrebbe aggirarsi fra 1 : 0,4 e 1 : 0,6.

In particolare merita di essere posto in evidenza che:

i vini rosati dell'Alto Adige sono apparsi meno ricchi di tannino e più scarichi di colore (anzi un po' troppo scarichi) di quelli del Trentino e che l'acidità totale di entrambi questi tipi è risultata un po' meno elevata di quella posseduta dai vini prodotti nelle restanti provincie venete;

i vini rosati hanno dimostrato di guadagnare poco con l'invecchiamento (soprattutto quelli di « Merlot »: del resto anche i vini normali di « Merlot » di solito non si prestano all'invecchiamento); sono vini, quindi, che vanno consumati entro il primo anno;

i rosati di « Raboso Veronese » presentano, malgrado lo scarso contatto avuto dal mosto, nel corso della fermentazione, con le bucce, un gradevole odore e sapore di marasca, talvolta più spiccato ancora che nel vino normale; dalle uve di questo diffuso vitigno si possono quindi ottenere con opportune correzioni e, se necessario, con qualche taglio, tipi di vini rosati e cerasuoli da pasto di gran lunga preferibili a quelli normali.

RIASSUNTO

Sono state ripetute, nel corso delle vendemmie 1947 e 1948, delle indagini sulla preparazione dei vini rosati e cerasuoli che già erano state condotte nella vendemmia 1946.

I risultati conseguiti hanno permesso di confermare che, nelle Venezie, questo particolare tipo di lavorazione può essere avviato con successo e che, data la preferenza dimostrata dal mercato per i vini rosati e cerasuoli, la loro preparazione merita di essere incoraggiata, fatta eccezione per le colline veronesi i cui vini rossi godono già una reputazione ed un avviamento commerciale tuttaltro che trascurabili.

I migliori « rosati » sono apparsi quelli del Trentino–Alto Adige; tuttavia anche nelle restanti provincie si possono ottenere prodotti degni di rilievo da uve di tipo comune, valorizzando così la produzione locale, soprattutto laddove questa è rappresentata dal « Raboso Veronese » e dai « Refoschi ».

Non conviene invece destinare alla preparazione di rosati o cerasuoli le uve di vitigni di pregio, come il « Pinot nero » ed i « Cabernets », dalle quali si possono viceversa ottenere ottimi vini superiori da pasto, come pure non conviene destinare all'invecchiamento i vini rosati.

La composizione media di un buon vino rosato è risultata la seguente:

Alcool	%	12	(11–13)
Acidità totale	°/₀₀	5	(4–6)
Estratto	°/₀₀	21	(19,5–22,5)
Glicerina	°/₀₀	7	(6–8)
Tannino	°/₀₀	0,6	(0,3–0,9)

L'intensità colorante (Dubosq) dovrebbe aggirarsi fra 1 : 0.4 e 1 : 0,6.

SUMMARY

FURTHER RESEARCHES ON PINK AND CERISE WINES OF THE VENETO REGION

by Italo Cosmo

The researches which had been carried on in the vintage of 1946 on the preparation of pink and cerise wines were repeated during the vintages of 1947 and 1948.

The results confirmed that in the Veneto region this particular type of production can be embarked on with success and, considering the preference demonstrated in the market for pink and cerise wines, their preparation merits being encouraged, except in the Verona hills where the red wines already enjoy a reputation and a far from unimportant commercial start.

The best pink wines appear to be those of Trentino-Alto Adige; although in the remaining provinces also products worthy of notice can be obtained from grapes of the common type, thus increasing the value of the local production, especially where it is represented by the 'Raboso Veronese' and by the 'Refoschi'.

It is not worthwhile, on the other hand, to destine for the preparation of pink or cerise wines the grapes of vineyards of high quality, such as the 'Pinot nero' and the 'Cabernets' from which can be obtained the most superior table wines; nor is it practical to destine the pink wines for aging.

The mean composition of a good pink wine gives the following results: —

Alcohol	‰	12	(11-13)
Total acidity . . .	‰	5	(4-6)
Extract	‰	21	(19.5-22.5)
Glycerine	‰	7	(6-8)
Tannin	‰	0.6	(0.3-0.9)

Color intensity (Dubosq) should be about 1 : 0.4 to 1 : 0.6.

Ricevuto il 16 marzo 1950.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Francesco Scurti)
E
OSSERVATORIO DI FITOPATOLOGIA
(Direttore: Giuseppe Della Beffa)
TORINO

Jole Scurti

SULLA *PSEUDOMONAS MARGINATA* DEL GLADIOLO

La *Pseudomonas marginata* (McCulloch) Stapp è un agente patogeno studiato per la prima volta in America da McCulloch (1921–1924) e più tardi segnalato in Germania e in Italia in modo dubbio e con un semplice accenno da Petri (1941), il quale però non ne potè approfondire lo studio per l'insufficienza del materiale di cui egli disponeva. Dopo d'allora nessuno più ne ha fatto cenno. In realtà, la malattia deve essere anche in Italia molto diffusa, almeno a giudicare dal fatto che essendomi rivolta a diversi floricoltori per ottenere bulbi immuni onde effettuarvi le prove d'inoculazione dell'agente potogeno in questione, stentai a trovarli; in quasi tutti era facile scorgere le caratteristiche chiazze brune.

La malattia però arreca danni sensibili solo in quelle località, in cui esistono condizioni favorevoli per lo sviluppo del parassita. Una di queste è il territorio torinese; anzi fu proprio questa circostanza che mi spinse ad approfondirne lo studio (sulle varietà di provenienza olandese raramente si osserva la presenza della *Ps. marginata*).

Caratteri macroscopici della malattia

La malattia si manifesta nei bulbi con lesioni, sia sulle brattee involucrali esterne che sul parenchima. Sulle brattee compaiono macchie di color bruno pallido, rotonde od ovali; il tessuto in seguito si fende e diventa bruno nerastro, sicchè la parte colpita viene a prendere l'aspetto di una zona carbonizzata.

Questa lesione delle brattee avvolgenti è sovente in relazione con la lesione della sottostante parte del bulbo, sebbene talvolta si osservino lesioni sui bulbi anche in punti in corrispondenza dei quali le brattee non sono colpite.

Sui bulbi la lesione comincia con macchie circolari depresse, ben definite, di color giallo o giallo-bruno, senza danni manifesti, nel primo periodo, nell'epidermide e nei tessuti sottostanti. In seguito il colore diventa più scuro e poscia bruno-nerastro, mentre la depressione si accentua e la zona lesa appare circondata da un orlo definito e un po' sollevato. Il diametro delle macchie è molto vario: in genere varia da 2 a 8 mm.; ma quando la lesione è in uno stadio molto avanzato, si possono osservare vaste aree depresse. Un'altra caratteristica che si osserva anche, sebbene in misura minore, nel materiale conservato, è l'essudato di gomma delle lesioni dei bulbi, che si rileva dalla particolare lucentezza che esse assumono anche quando sono secche.

Sulle foglie nate da questi bulbi si è osservata, in alcune piante, una zona longitudinale di color bruno, che interessava sia la nervatura che il parenchima internervale. In altre piante le foglie erano pressochè normali; peraltro non bisogna dimenticare che anche le foglie apparentemente normali possono essere vettrici della malattia. In un primo tempo alcune di queste foglie manifestavano una leggera maculatura clorotica, che poteva essere anche in relazione con la malattia. Le piante colpite più intensamente non germinarono o, se germinarono, ben presto seccarono.

Caratteri istologici

Per studiare l'istologia patologica del gladiolo colpito da questo parassita, ho sezionato materiale fissato e non fissato di bulbi sani e di bulbi ammalati.

Nei preparati di bulbi sani si osserva, all'esterno, uno strato di cellule epidermiche a sezione quasi quadrata, senza spazi intercellulari, dal quale si passa a una zona corticale notevolmente sviluppata, costituita da cellule rotondeggianti, di dimensioni più piccole e con spazi intercellulari minori verso la periferia, più grandi e con spazi intercellulari più ampi verso la parte più interna. Tra le cellule del parenchima corticale spiccano alcuni elementi ricchi di cromoplasti, ai quali è dovuta la colorazione gialla del bulbo. La zona corticale occupa nei bulbi uno spessore notevole ed è attraversata da fasci fibrovascolari. Il centro del bulbo è occupato dal cilindro centrale, il quale non è però colpito dalla malattia.

Tutte le cellule del parenchima corticale sono molto ricche di amido.

Per lo studio del materiale patologico, poichè nelle sezioni di materiale semplicemente fissato e colorato non si riuscivano a mettere

in evidenza nè i componenti cellulari nè il contenuto delle cellule a causa della grande abbondanza di amido, mi sono anche servita di materiale trattato — dopo fissaggio in alcool — con acido cloridrico diluito. All'uopo feci uso dell'acido cloridrico, che s'impiega normalmente per la colorazione del nucleo col metodo di Feulgen: cc. 82,5 di HCl in 1000 cc. di acqua. In questa soluzione i pezzi vennero lasciati tre ore, alla temperatura costante di 60° agitando sovente. In seguito i pezzi furono lavati abbondantemente con acqua e lasciati in essa 24 ore, dopo di che si passarono di nuovo nella serie degli alcoli e quindi si procedette a una inclusione normale. Altre volte procedetti allo stesso trattamento sulle sezioni, ma il primo metodo si dimostrò più indicato, anche perchè i pezzi liberati dell'amido possono venire più facilmente sezionati. Le sezioni furono fatte di 5–6 μ di spessore per i preparati destinati a mettere in evidenza i batteri e di 15 μ per i preparati destinati all'esame istologico. Esse furono poi colorate parte con la tionina, parte col bleu di metilene, parte col metodo di Loeffler, parte col metodo di Gram, parte con emateina ed eosina. Sezionando pezzi in diversi stadi della malattia, si riuscì a mettere in evidenza quanto segue.

La zona ammalata occupa un'area a contorno circolare, nettamente delimitata da un orlo sopraelevato. La sezione di quest'area eseguita in direzione normale alla superficie del tubero ha una forma semicircolare ed in essa, a partire dall'esterno si nota:

a) Una zona di cellule con evidenti segni di necrosi o di necrobiosi. Tali cellule, che appartengono al tessuto epidermico e agli strati immediatamente sottocorticali, sono completamente prive di amido e quasi tutte svuotate del loro contenuto. Dove questo esiste, il protoplasma forma un ammasso omogeneo di colore giallastro o bruno. Molte pareti sono rotte e tutto il tessuto mostra evidenti segni di degenerazione. Colorando la sezione col bleu di metilene, si osservano alcune cellule piene di batteri, i quali talora appaiono nettamente metacromatici, assumendo una colorazione rossa.

b) Un tessuto sugheroso più interno che consta in media di 8–9 strati di cellule rettangolari appiattite, disposte concentricamente. Il numero di strati è tanto maggiore quanto più la malattia è progredita.

c) Un parenchima corticale, all'interno della barriera sugherosa, il quale non mostra alcuna modificazione rispetto a quello dei tuberi sani. Esso è a cellule rotondeggianti, a pareti abbastanza spesse, con citoplasma granuloso eosinofilo, ricco di amido. Nelle cellule liberate dell'amido, mediante idrolisi, è possibile mettere

in evidenza il nucleo, per lo più eccentrico, di forma sferica, basofilo. Dato il trattamento, a cui i tessuti sono stati sottoposti, riesce però difficile mettere in evidenza i vari componenti nucleari. Le scaglie in corrispondenza della lesione, sono anch'esse sovente necrotiche. Dal complesso di queste osservazioni, si può trarre qualche induzione sulla probabile modalità di penetrazione dei batteri e sulla reazione dei tessuti della pianta ospite. I batteri probabilmente penetrano nelle scaglie che avvolgono il bulbo, donde passano nell'epidermide e negli strati immediatamente sottoepidermici. Però, poichè i bulbi possono anche essere attaccati in punti, in corrispondenza dei quali le scaglie avvolgenti appaiono sane, è possibile che i batteri possano penetrare anche direttamente nel bulbo senza ledere le scaglie. A questo proposito va sottolineato il ruolo che in tutte le infezioni batteriche giocano le soluzioni di continuità comunque originate e in primo luogo le ferite, le quali nel nostro caso devono avere indubbiamente contribuito a provocare la malattia. Infatti i gladioli in esame presentavano lesioni da *Agriotes lineatus*, le cui larve trovai abbondanti nel terreno, per cui è lecito supporre che esso possa avere favorito la penetrazione dei batteri. Subito dopo la penetrazione dell'agente patogeno, il tessuto della pianta ospite reagisce, formando uno strato suberoso, che separa il tessuto parassitato da quello sano e che ha evidentemente lo scopo di ostacolare l'ulteriore cammino del patogeno. Il tessuto all'esterno della barriera suberosa viene in seguito invaso dai batteri, mentre i tessuti all'interno di essa, compreso il cilindro centrale, appaiono sani.

Nelle lesioni di lieve entità la zona necrotica non interessa che pochi strati del tessuto corticale, ma nelle lesioni di maggiore gravità il tessuto corticale viene interessato anche a notevole profondità, con evidente danneggiamento del bulbo.

Caratteri colturali

Poichè la malattia prodotta dalla *Ps. marginata* presenta macroscopicamente qualche rassomiglianza con quella prodotta dal *Penicillium gladioli* McCulloch e con quella dovuta alla *Septoria gladioli* Pass., ho eseguito prove culturali per accertarne la natura. Per queste mi sono servito dei bulbi, non essendo in possesso di altro materiale. All'uopo dalle macchie più piccole furono prelevati pezzi più che fosse possibile sterili, dopo aver disinfettato esternamente con alcool e avere allontanato i tessuti superficiali. Le semine furono effettuate su tasselli di patata, tasselli di carota, agar–carota, liquido

di Cohn. Le colture furono tenute a temperatura di 22° C. Dopo 24 ore ottenni sia su agar–carota che su tasselli di patata e carota una patina uniforme biancastra. In liquido di Cohn ottenni, sempre dopo 24 ore, una caratteristica pellicola, sulla quale erano disseminati numerosi cristalli a forma di croce o di stella, mentre il liquido rimaneva torbido. In nessun caso ottenni sviluppo di funghi. Da queste culture dopo ripetuti isolamenti che effettuai seguendo la tecnica comunemente usata in batteriologia, riuscii a ottenere il batterio in cultura pura, che coltivai oltre che sui terreni sopra menzionati, ossia agar–carota, tasselli di patata, tasselli di carota, liquido di Cohn, anche su agar–carne e agar–patata. In agar–carota, su tasselli di patata, e su tasselli di carota, ottenni lo sviluppo di una patina uniforme biancastra, in liquido di Cohn ottenni lo sviluppo della sudescritta pellicola con cristalli. Agitando il tubo, i cristalli col loro peso provocavano la caduta della pellicola e allora pellicola e cristalli andavano in fondo, formando un abbondante sedimento, dapprima bianco, poi, dopo alcuni giorni giallastro. Il liquido appariva colorato in giallastro, talora anche giallo–verdastro, oppure verdastro. Su agar–carne ottenni lo sviluppo di una patina uniforme, di colore biancastro lucente. I tubi con agar–patata presentavano parimenti sviluppo di una patina biancastra, lucente. Il substrato non presentava sensibili cambiamenti di colore.

Semine in capsule Petri

La semina in agar–carne e agar–patata eseguita in un solo punto (dopo diluizione) diede dopo 2 giorni colonie puntiformi di colore biancastro, di aspetto cremoso translucide, a margine intero. Dopo 8 giorni le colonie avevano un diametro di circa 2 cm. e apparivano a contorno circinato, col margine fortemente lobato, sempre di colore bianco e di aspetto cremoso. Tale forma e aspetto esse mantennero in seguito.

Prove di fermentazione

Furono fatte le seguenti prove di fermentazione:

Latte: il latte formò dapprima un coagulo molle (in 3–4 giorni) ma dopo circa 2 settimane la caseina venne digerita.

Saccarosio: col liquido di Cohn addizionato all'1 % di saccarosio la reazione dapprima alcalina virò in 4–5 giorni debolmente verso l'acidità. Non si osservò formazione di gas.

Lattosio: col liquido di Cohn addizionato dell'1% di lattosio non si osservò produzione di gas, nè di acidi.

Galattosio: col liquido di Cohn addizionato dell'1% di galattosio non si osservò produzione di gas nè di acidi.

Maltosio: col liquido di Cohn addizionato dell'1% di maltosio si osservò in alcuni tubi un leggero spostamento del pH del liquido verso l'acidità (da 6,8 a 6,4), mentre in altri il pH rimase invariato. Non si osservò sviluppo di gas.

Amido: col liquido di Cohn addizionato di amido non si osservò idrolisi del detto composto.

Liquido di Fermi: in questo mezzo di coltura il batterio formò dopo alcuni giorni una sottile pellicola, mentre il mezzo assunse una leggera fluorescenza verdastra.

Osservazioni ai raggi ultravioletti: la coltura in liquido di Fermi mostrò fluorescenza bleu chiara e quella in liquido di Cohn fluorescenza verde.

Acido solfidrico: in tubi di agar–carota e agar–patata non si osservò, per aggiunta di acetato di piombo, presenza di acido solfidrico.

Indolo: per questa prova si coltivò il germe in acqua peptonizzata e a questa dopo 6 giorni si aggiunse un cc. di soluzione all'1‰ di nitrato potassico, 8 gocce di acido solforico puro e circa 2 cc. di alcool amilico. Portando lo strato superficiale del liquido all'ebollizione, comparve una colorazione rosa, che stava a testimoniare che era presente una certa quantità di indolo.

Riduzione dei nitrati in nitriti: per questa prova il bacterio fu coltivato in un liquido così composto: peptone gr. 10, cloruro sodico gr. 5, nitrato potassico gr. 1, acqua cc. 1000. Dopo 6 giorni si aggiunse 0,5 cc. di salda d'amido, 0,5 cc. di joduro potassico e alcune gocce di acido solforico. Non si osservò la caratteristica colorazione bleu rossastra, il che sta ad indicare che non si erano formati nitriti.

Caratteri morfologici del batterio

Colorato col metodo di Gram, il batterio è risultato Gram negativo, a forma allungata, a bastoncelli di dimensioni 0,5 per 1–1,8 μ Però sono stati osservati anche alcuni elementi rotondeggianti a forma di cocchi, nonchè delle forme micetoidi di 2–200 μ di lunghezza. Il batterio è provvisto di capsula. Non è stata osservata formazione di spore. Osservato al microscopio a differenza di fase, in preparati *in vivo* a partire da colture, il batterio appare sempre mobile. Al microscopio, a contrasto di fase si possono anche osservare dei minutissimi apiculi terminali, da cui presumibilmente partono le ciglia. La mobilità si arresta rapidamente per aggiunta di piccole quantità di alcool, dal che si deduce che il movimento è effettivamente dovuto ai batteri e non si tratta di moti browniani.

Come si vede, sia le prove colturali che le prove di fermentazione ed i caratteri morfologici convergono nel far ritenere che il batterio isolato sia identico a quello isolato dalla McCulloch, per cui non vi ha dubbio che siamo in presenza della *Ps. marginata*. Per controllo pensai di eseguire anche delle prove di riproduzione sperimentale della malattia.

Riproduzione sperimentale della malattia

A questo scopo furono impiegate piante nate da bulbi sani tenute in serra aperta. Colture in agar del batterio furono diluite con acqua e con questo liquido si inzuppò un batuffolo di cotone, che venne posto dopo leggerissimo strofinio su una piccola porzione delle foglie più giovani in 10 piante lasciandolo per qualche giorno. Dopo 10–15 giorni tre delle piante trattate presentavano delle macchie piccole, puntiformi, brune, più o meno evidenti simili a quelle descritte e figurate dagli Americani e considerate come carattere specifico iniziale della malattia. In un'altra pianta le macchie apparvero più allungate e di dimensioni maggiori.

Resta così dimostrato che il ceppo patogeno per i bulbi può causare anche lesioni sulle foglie.

La zona non infettata non presentava invece alterazioni, nè la pianta — forse per le particolari condizioni di secchezza dell'ambiente in cui fu tenuta, che arrestarono il batterio nel suo sviluppo — ebbe a manifestare segni di deperimento.

RIASSUNTO

È segnalata la presenza in Italia della *Pseudomonas marginata* (McCulloch) Stapp, che si manifesta sui bulbi di gladiolo con macchie rotonde, depresse al centro, dapprima giallo brune, poi brune o nere, circondate da un margine rilevato nero. Anche le brattee presentano macchie rotonde o ovali, di colore bruno–nerastro. Un essudato gommoso di colore giallastro o bruno si raccoglie sulla macchia. I caratteri sia morfologici che culturali del parassita isolato in cultura pura concordano con quelli descritti per la *Ps. marginata*. La malattia è stata riprodotta sperimentalmente inoculando i batteri isolati dai tuberi. Date le condizioni climatologiche del nostro Paese, solo in rari casi la malattia arreca danni di una certa entità.

SUMMARY

PSEUDOMONAS MARGINATA ON GLADIOLUS

by Jole Scurti

The presence of *Pseudomonas marginata* (McCulloch) Stapp has been noted in Italy on the bulbs of gladiolus; it is characterized by circular spots, sunken in the center, at first yellow–brown, then brown or black, with a black raised margin.

The bracts also show circular or oval spots, of a dark brown colour. A gummy exudate gathers on the spot and turns yellowish or dark brown. Morphological and cultural characters of the parasite isolated in a pure culture agree with those described for *Ps. marginata*. The disease has been experimentally reproduced by inoculating into the leaves the bacterium isolated from the bulb. The disease is rarely harmful in Italy.

BIBLIOGRAFIA

Breed, R. S., Murray, E. G., and Hitchens, P. Bergey's manual of determinative bacteriology. Baltimore, 1948.

Ciferri, R. Alcune malattie e anormalità dei gladioli osservate in Italia. *Notiziario sulle malattie delle piante*, 1949 (2), 17–22.

Dodge, B. O., and Rickett, H. W. Diseases and pest of ornamental plants. New York, 1948.

Elliott, Ch. Manual of bacterial plant pathogens. London, 1930.

Fischer, R. Über die durch *Bacterium marginatum* verursachten Gladiolen Krankheiten. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*, 1930, 81, 80–96.

Flachs, K. Krankheiten und Parasiten der Zierpflanzen. Stuttgart, 1931.

McCulloch, L. A leaf and corm disease of gladioli caused by *Bacterium marginatum*. *Journ. Agr. Res.*, 1924, XXIX, 159–177.

Pape, H. Krankheiten und Schädlinge der Zierflanzen. Berlin 1932.

Petri, L. *Boll. Staz. Pat. Veg.* Roma, 1941, XX, 56.

Severini, G. Una batteriosi dell'*Ixia maculata* e del *Gladiolus Colvilli*. *Annali di Botanica*, 1913, 11, 413–424.

Starr, M. P., and Burkholder, W. Lipolytic activity of phytopathogenetic bacteria determined by means of spirit blue agar and its taxonomic significance. *Phytopathology*, 1942, 32, 601.

Ricevuto il 18 marzo 1950.

FIG. 1. – Porzione di brattea involucrale del bulbo con aree necrotiche.

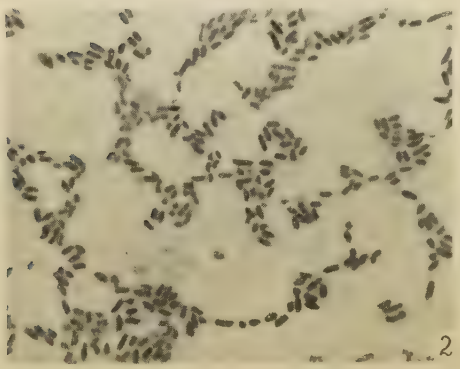
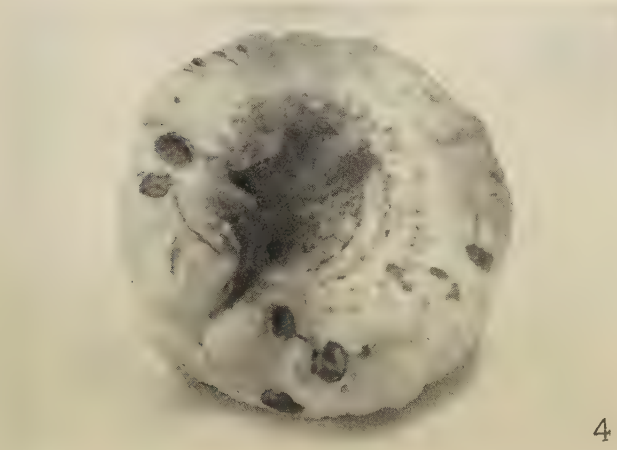


FIG. 2. – Striscio della *Pseudomonas marginata* (McCulloch) Stapp colorato col metodo di Gram.

3

FIG. 3. – Bulbo ammalato avvolto dalle brattee con aree necrotiche.



4

FIG. 4. – Bulbo ammalato con macchie brune (privato delle brattee).

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Francesco Scurti)
E
OSSERVATORIO DI FITOPATOLOGIA
(Direttore: Giuseppe Della Beffa)
TORINO

Jole Scurti

SULLA ISTOPATOLOGIA DEL MAIS PARASSITATO DALL'*USTILAGO MAYDIS*

Sul comportamento dei tessuti del mais di fronte all'infezione dell'*Ustilago maydis* e sulle modificazioni che i tessuti stessi subiscono nei diversi periodi di sviluppo del fungo in rapporto all'accrescimento della pianta infetta, si hanno ancora notizie frammentarie ed incomplete.

Il primo a portare un effettivo contributo alla conoscenza dell'infezione da parte di questo fungo fu il Tulasne.

Questo studioso mise in evidenza che le 6 piccole brattee che circondano il pistillo del mais, soggiacciono tutte, quando il fiore viene colpito dal parassita, a svariate modificazioni; esse divengono ipertrofiche, notevolmente ispessite, ora più larghe e basse, ora più strette e allungate. L'ovario, sempre secondo il suindicato studioso, può prendere parte a questa turgescenza, ma le sue dimensioni restano di regola molto minori di quelle degli organi accessori che l'accompagnano. L'ovulo è ridotto ad una piccolissima massa in fondo alla cavità dell'ovario.

Dei tumori si osservano anche, secondo questo autore, nelle foglie e nel fusto. Le lacune originatesi in seno al parenchima che forma la massa del tumore verrebbero in seguito riempite da una sostanza mucillagginosa, a spese della quale si formerebbero i tegumenti delle spore.

Più tardi Brefeld con nuove ricerche mise in evidenza il modo con cui si verifica l'infezione del fungo e chiarì alcune modalità del suo parassitismo nei tessuti delle piante ospiti.

Questo studioso eseguì una serie di colture di clamidospore, dimostrando che il promicelio, che da queste origina, produce a sua volta sporidi aerei, capaci di germinare sulla pianta ospite, e di causare l'infezione. Lo stesso studioso eseguì poi parecchie serie di infezioni su plantule in diverso stadio di sviluppo, dimostrando che, tranne i giovani germogli che sono quasi immuni, tutte le parti giovani delle piante per tutta la durata del loro sviluppo fino all'epoca della formazione delle pannocchie, vanno soggette all'infezione, la quale però è sempre strettamente locale, essendo limitata al tessuto attorno o immediatamente sotto il punto di penetrazione dello sporidio.

Le clamidospore sarebbero nella maggior parte dei casi incapaci di germinare sulle piante ospiti. Le infezioni avverrebbero perciò sempre con gli sporidi.

Piemeisel riuscì ad ottenere l'infezione con spore di 5 anni di età.

Stackmann e Christensen dimostrarono l'eterotallismo in *U. maydis*; la fusione di 2 sporidi di sesso opposto sarebbe — per questi studiosi — condizione indispensabile per lo sviluppo del micelio e delle clamidospore nella pianta ospite, e a risultati analoghi pervenne Hanna, secondo cui un'ifa aploide non ha il vigore sufficiente per infettare la pianta.

Rawitscher, a proposito della citologia delle Ustilaginee, ebbe a rilevare che l'ifa micelica dell'*U. maydis* è, al pari dello sporidio, da cui trae origine, uninucleata. Essa ha, nel primo periodo, decorso intercellulare e si colora fortemente col violetto genziana. In seguito diviene meno colorabile, pur restando sempre uninucleata, e forma grovigli di micelio che riempiono le cavità tumorali.

All'epoca della formazione delle spore, l'ifa diviene binucleata in seguito alla fusione di due ife contigue. I due nuclei si riuniscono nuovamente per formarne uno solo, nella spora matura.

Ray stabilì la presenza di una diastasi, con cui il parassita sarebbe capace di sottrarre le sostenze nutritizie all'ospite, e particolarmente gli idrati di carbonio.

Grüss a questo proposito ha messo in evidenza nell'*U. maydis* un enzima, che agisce sulle membrane cellulari dissolvendole e trasformandole in mucillaggine in seguito ad un processo idrolitico.

Questa mucillaggine viene utilizzata e trasformata in composti zuccherini che contribuiscono alla formazione delle spore.

Si verifica anche una diminuzione del peso specifico e una minore concentrazione dei succhi delle piante ammalate in rapporto a quelle sane (Hurd Karrer). Dalle ricerche eseguite da Hurd Karrer e Hasselbring è emerso altresì che il contenuto in zuccheri dei pezzi di stelo delle piante ammalate è inferiore a quello delle piante sane.

Dal punto di vista istopatologico scarso è il contributo dato allo studio delle Ustilaginee, se si eccettuano i lavori di Guttenberg e di Butler.

Guttenberg esaminando la pannocchia di granoturco parassitata dall'*U. maydis*, ha osservato un contatto del nucleo della cellula ospite col patogeno. Nel caso che più ife penetrino contemporaneamente in una cellula, il nucleo prenderebbe una posizione intermedia tra le ife.

Il medesimo autore ha altresì rilevato che il micelio vegetativo del fungo nella pianta ospite è avvolto da una guaina di cellulosa, guaina, che verrebbe appunto fabbricata sotto l'influsso del nucleo e rappresenterebbe un tentativo delle cellule ospiti di impedire la penetrazione dell'ifa. Il nucleo subirebbe, per effetto del patogeno, notevoli alterazioni, soprattutto nel tessuto al limite delle galle. Tali alterazioni consisterebbero, oltre che in un ingrossamento, anche in una lacerazione, gemmazione, deformazione, vacuolizzazione e perdita di colorabilità della sostanza cromatica.

Per quel che riguarda l'anatomia delle galle, Guttenberg ha osservato che (per lo meno nella pannocchia) l'adroma non si sviluppa, mentre si sviluppano notevolmente dei fasci accessori ricchi di cribri.

Il leptoma soprannumerario servirebbe per provvedere al fungo le sostanze necessarie alla formazione delle spore.

Anche Butler ha portato un contributo alla fisiologia del parassitismo dell'*U. maydis*, distinguendo le ife che servono alla diffusione del fungo da quelle che servono ad assorbire il nutrimento dalla pianta ospite. Le

ife sarebbero incluse in un tubo di cellulosa, il quale servirebbe all'ospite per proteggersi dagli attacchi del fungo. Il fungo vivrebbe così del soprappiù del nutrimento della pianta, fino all'epoca della formazione delle spore, epoca in cui avverrebbe la distruzione completa del contenuto cellulare. Per quel che riguarda la tesi dell'infezione locale, Butler è dell'opinione che il carbone del mais possa anche essere una malattia sistemica e diffondersi nei diversi punti della pianta ospite mediante infezione di germogli.

Alterazioni citologiche analoghe a quelle osservate da Guttenberg e Butler nelle cellule parassitate da Ustilaginee, rilevarono Allen e Rice per le *Puccinia*.

Allen infatti ha osservato in una razza suscettiva di frumento che le cellule invase da un austorio di *Puccinia* si rigonfiano, mentre i nuclei cellulari si dirigono verso l'austorio.

Rice a proposito della *Puccinia maydis* ha osservato che gli austori non sono il solo mezzo con cui il parassita trae il suo nutrimento, in quanto si osserva anche un abbondante micelio intercellulare. Questo denota che prima dello sviluppo degli austori il micelio è capace di ricavare il suo nutrimento attraverso le pareti delle cellule ospiti. L'austorio aumenta inoltre la superficie d'assorbimento.

Nelle cellule ospiti è stata osservata una ipertrofia del nucleo e un contorno lobato, che è stato interpretato come una forma atta a rappresentare l'attività patogena delle cellule infette dalle ruggini.

Lo sviluppo della guaina attorno all'austorio può essere considerata come una reazione dell'ospite di fronte al parassita. Nei primi stadi di sviluppo peraltro questa reazione è debole e raramente si forma la guaina. In una seconda fase — sempre secondo la medesima autrice — la diminuzione delle risorse dell'ospite espresse dall'ingiallimento dell'area infetta, stimola la pianta alla deposizione di cellulosa.

Sempre secondo Rice esisterebbe, fino ad una certa fase dello sviluppo, una relazione mutualistica fra il parassita e il suo ospite; le cellule del parassita assorbirebbero dal nucleo delle cellule ospiti le sostanze nutritizie.

Le ricerche portano alla conclusione che anche le ruggini, come i carboni, non recano danno, eccetto che al tempo della produzione delle spore.

Da questa breve rassegna emerge chiaramente quanto limitate siano le conoscenze sulla fisiopatologia delle Ustilaginacee, per cui ci è sembrato opportuno intraprendere una serie di ricerche atte a colmare, per lo meno in parte, le lacune esistenti in questo campo.

A tale scopo per tre anni consecutivi noi abbiamo seminato numerose cariossidi di mais e quando le piante avevano raggiunto l'altezza di 20 cm. circa, le abbiamo infettate con clamidospore di *U. maydis* *

---

*Noterò, incidentalmente che al contrario di quanto sostengono taluni autori e in accordo con le esperienze di Walter ottenemmo risultati molto migliori infettando le piante di mais con le clamidospore che non infettandole con gli sporidi. Questi ultimi erano stati ottenuti in cultura pura, seminando delle clamidospore di *U. maydis* in un liquido nutritizio contenente su 400 cc. di acqua, 8 % di glocosio, 1,5 % di peptone, 0,01 % di $MgSO_4$ e tracce di Na_3PO_4.

raccolte da piante infette nell'estate precedente. Le clamidospore furono iniettate con un ago nel fusto, esclusivamente nella zona immediatamente sopra l'ipocotile. Dopo 25, 35, 45 giorni furono prelevati pezzi del fusto nella zona dove era stata eseguita l'inoculazione e nelle zone adiacenti. È superfluo aggiungere che in questo stadio nessuna delle piante manifestava segni palesi di sofferenza. Un certo numero di piante fu lasciato sul campo per osservare i risultati dell'infezione e per prelevare all'occorrenza pezzi di tessuti lesionati. I risultati dell'infezione non tardarono a manifestarsi e le lesioni apparvero su oltre un quarto delle piante esistenti: 55 giorni dopo l'infezione si potevano osservare sintomi evidenti su diversi organi aerei del granoturco e soprattutto sul fusto in corrispondenza dei nodi, sulle foglie, sulle cariossidi e sull'asse dell'infiorescenza femminile.

Da queste piante con evidenti lesioni prelevammo tessuti dall'asse della spiga femminile, dalle brattee involucrali, dalle cariossidi in diversi stadi di sviluppo, dalle foglie con tumori di diversa grossezza, dal fusto in corrispondenza del tumore, nonchè dalla zona 20 cm. al di sotto e 20 cm. al di sopra di esso, dove non appariva alcun segno palese di sofferenza. E ciò facemmo non solo per controllare la tesi dell'infezione locale ormai generalmente accettata, ma anche e soprattutto per studiare le reazioni dei tessuti limitrofi a quelli lesionati. Non tralasciammo poi di prendere in esame i fusti, le foglie e le spighe femminili apparentemente sane appartenenti a piante ammalate, e di confrontare sempre le sezioni di piante ammalate con sezioni di piante sane. Tessuti simili furono poi prelevati anche da piante diverse, poichè notoriamente le cellule del medesimo tessuto possono mostrare un comportamento diverso da caso a caso a seconda della loro età al momento dell'infezione e della grossezza dei tumori formati.

Tutto il materiale fu fissato parte in alcool, parte in formalina, incluso in paraffina e colorato in maniera diversa a seconda delle strutture che si desiderava mettere in evidenza. Per lo più fu eseguita la colorazione con emateina ed eosina. Si tentò anche di servirsi di sezioni a mano; ma queste non si mostrarono adatte allo scopo, data la sottigliezza del micelio di *U. maydis* e la difficoltà di metterlo in evidenza nei tessuti.

Ed ecco i risultati ottenuti.

Fusto: 25 giorni dopo l'infezione

Le sezioni trasversali e longitudinali del fusto in questo stadio, colorate con emateina ed eosina mostrano una epidermide formata da cellule rettangolari allungate secondo l'asse maggiore del fusto, dalle

quali si passa ad un parenchina fondamentale con cellule a contorno rotondeggiante in sezione trasversale e che viste in sezione longitudinale appaiono allungate nel senso dell'asse maggiore del fusto.

Queste cellule presentano il citoplasma vacuolizzato e un nucleo ben colorabile, rotondeggiante, centrale o eccentrico, in cui sono nettamente distinguibili la cromatina disposta a masse e uno o due nucleoli basofili o acidofili, circondati da una alone chiaro. Molte cellule presentano due nuclei. Nel parenchima fondamentale si vanno differenziando i fasci fibro–vascolari, alcuni dei quali sono ancora in questo stadio semplici cordoni prevascolari, mentre in altri si vanno differenziando i vasi. Per lo più i cordoni prevascolari constano di cellule molto allungate, con nucleo talvolta ovale, talvolta affusato in cui sono nettamente distinguibili i granuli di cromatina e uno o due nucleoli.

La ricerca del micelio riesce in questo stadio molto difficile, in primo luogo a causa della sua scarsezza, e in secondo luogo a causa della sua preferenza per gli spazi intercellulari. Tuttavia siamo riusciti a metterlo in evidenza tra le cellule del parenchima fondamentale. Esso ha un diametro piuttosto grosso, non eguale in tutta la lunghezza dell'ifa, è nettamente emateinofilo, nell'interno si presenta omogeneo, o con la sostanza cromatica disposta a masse minutissime. Abbiamo osservato, in vicinanza del micelio, cellule in attiva divisione, si che in un primo tempo ci era sorto il dubbio che il micelio fin dai primi stadi dello sviluppo eccitasse le cellule a moltiplicarsi. Però questa ipotesi, pure essendo verosimile, è difficile da dimostrare, dato che in questo stadio si trovano parecchie cellule in attiva divisione, specie in vicinanza dei fasci fibro–vascolari in via di formazione. Questo micelio, difficile a riconoscersi nelle sezioni trasversali, è più evidente nelle sezioni longitudinali; noi ne abbiamo osservate alcune ife nei cordoni prevascolari in via di formazione. Tali ife decorrono qui intracellulari; per un certo tratto attraversano le cellule in senso normale al fascio per poi continuare il loro percorso in senso parallelo al fascio stesso. Questo micelio non è sempre facilmente differenziabile ad un primo esame dai nuclei delle cellule dei cordoni procambiali, che sono assai allungati. Tuttavia un esame più approfondito permette di distinguere il micelio sia per la sua capacità di attraversare numerose cellule, sia perchè non sono visibili in esso i nucleoli che sono invece molto evidenti nei nuclei. Noi non abbiamo osservato in questo stadio alcuna modificazione nelle cellule nè per quanto riguarda il nucleo, nè per quanto riguarda il citoplasma, i quali hanno una struttura del tutto normale. Molte cellule hanno due nuclei, ma anche questo fatto è riscontrabile nelle piante non parassitate.

Fusto: 35 giorni dopo l'infezione (tav. I, figg. 1–2)

L'anatomia del fusto in questo stadio non è molto dissimile da quella dello stadio precedente. Solo i fasci fibro–vascolari sono più differenziati, distinguendosi in essi trachee, tracheidi e fibre già completamente formate. Appunto nei vasi e nelle fibre siamo riusciti a mettere in evidenza pezzi di ife che probabilmente vi erano state incluse prima della lignificazione, mentre altre ife abbiamo osservato nel parenchima annesso a tali vasi. Le ife erano inter– e intra–cellulari e mostravano le stesse caratteristiche già descritte in precedenza. Il tessuto della pianta ospite non presentava dal punto di vista anatomico e citologico alcuna modificazione rispetto a quello sano e perciò ne tralasciamo per brevità la descrizione.

Fusto: 45 giorni dopo l'infezione (tav. I, fig. 3)

Il fusto in questo stadio presenta già i fasci fibro–vascolari ricchi di fibre liberiane e legnose e un parenchima fondamentale con cellule meno ricche di citoplasma e più vacuolizzate in confronto agli stadi precedenti. I nuclei sono sempre assai evidenti, con la cromatina disposta a masse e un nucleolo basofilo o acidofilo. Il micelio non è facile da distinguere, poichè anche qui esso è in massima parte intercellulare. Senza un esame molto attento e se non si fanno sezioni estremamente sottili, esso può sembrare scarso o addirittura quasi mancante, ma poi esaminando parecchie sezioni colorate, ci si rende conto che in realtà è abbastanza abbondante. Il micelio non è ramificato o lo è assai raramente e occupa nella grande maggioranza dei casi gli spazi intercellulari che segue costantemente in maniera perfetta, per quanto il suo diametro vari molto nei diversi punti (il diametro medio è di circa 3,5 μ ma in certi punti arriva fino a 7–8 μ). Il micelio è ovunque emateinofilo, omogeneo (ossia non si distingue in esso alcuna struttura interna), sprovvisto di guaine. Raramente in questo stadio il micelio penetra nelle cellule, attraversandole. Tuttavia in qualche caso isolato accade che il micelio invii alcuni austori nelle cellule, austori che possono anche arrivare a contatto o quasi col nucleo. Questo però non sembra per nulla soffrire della vicinanza del patogeno; mantiene inalterata la sua forma e la colorabilità dei suoi componenti. Anche il citoplasma non subisce modificazioni di sorta. Nessuna modificazione si osserva del pari nelle cellule tra le quali il patogeno vive, senza peraltro penetrarvi. Abbiamo anche osservato micelio tra le cellule dei parenchimi

dei fasci fibrovascolari e anche qui non si osservano reazioni da parte del patogeno, ciò che spiega perfettamente il fatto che la pianta ospite non manifesta alcun segno macroscopico di sofferenza.

Fusto: 55 giorni dopo l'infezione (20 cm. sopra la lesione)

In questo stadio il fusto consta essenzialmente, oltre che della epidermide, di un parenchima fondamentale formato da cellule poverissime di citoplasma, con nuclei rotondeggianti per lo più eccentrici, in cui sono ben visibili la cromatina disposta a masse e uno o due nucleoli basofili o acidofili. I fasci sono ormai completamente formati, ricchi di fibre legnose e liberiane che danno loro una notevole consistenza. In nessun tessuto siamo riusciti a mettere in evidenza micelio. È degno di nota il fatto che nessun tessuto 20 cm. sopra la lesione mostra segni microscopici di sofferenza, i nuclei e il citoplasma hanno una disposizione perfettamente normale e non risentono affatto l'influenza del parassita che ha invaso molte altre parti della pianta ospite.

Fusto: 55 giorni dopo l'infezione (20 cm. sotto la lesione)

Per queste ricerche si prelevarono, come già si disse, pezzi di fusto 55 giorni dopo l'infezione. In questo stadio il fusto presentava già i fasci fibro–vascolari ben differenziati e tutti i suoi tessuti erano giunti ormai al termine dell'accrescimento. La zona presa in esame, 20 cm. sotto il tumore, non presentava alcun segno apparente di sofferenza; tuttavia la sezionammo sia per accertare la veridicità di quanto è generalmente ammesso e cioè che ove c'è il micelio si produce costantemente un tumore, sia per studiare nel caso di assenza del micelio le modificazioni dei tessuti che si trovano a relativa distanza dalla zona lesa. Però appena sezionato il tessuto, fummo sorpresi dal fatto che il tessuto, per quanto, come si è detto, non presentasse segni macroscopici di sofferenza, era parassitato dall'*U. maydis*.

Una sezione longitudinale, colorata con ematein a ed eosina lasciava infatti facilmente scorgere un micelio piuttosto abbondante che si trovava sia nel parenchima fondamentale, sia nel parenchima legnoso e da questo mandava anche ramificazioni nell'interno dei vasi. Le caratteristiche delle ife non lasciavano dubbi sull'identità del micelio con quello dell'*U. maydis*. L'ifa presenta dimensioni molto varie e ha decorso inter–, o più spesso, intra–cellulare. In corrispondenza delle ramificazioni intracellulari si presenta sovente settata. Le ramificazioni sono diritte o più o meno sinuose, con l'apice più sottile, o

talvolta dilatato; qualche volta hanno un aspetto coralloide. Tali ramificazioni sono talvolta degli austori, talvolta invece originano altre ife di diffusione. Tutte le ife sono di diametro piuttosto grosso, leggermente emateinofile (solo qualche ramo isolato ha una certa elettività per i colori acidi). Non si osserva in nessuna ifa il nucleo, ma solo un citoplasma cosparso di finissime granulazioni. Il nucleo della cellula parassitata (anche quando l'ifa gli è vicino o addirittura gli è sopra) pare reagire poco all'infezione; esso non mostra alterazioni della sua struttura, il nucleolo (o i nucleoli) appaiono colorati e la cromatina, disposta a masse, non mostra differenze in confronto con quella delle cellule non parassitate. Solo qua e là si osserva qualche nucleo con contorno a due–tre lobi, mentre in altri punti si osserva che, ove le ife formano digitazioni mettendosi in rapporto col nucleo, questo appare ora vacuolizzato e leggermente ingrossato, ora a contenuto omogeinizzato.

Come si vede le lesioni sono minime e difficili a rilevare. Ma come conciliare la presenza del micelio con la assenza dei tumori e con la completa integrità dei tessuti?

Si può ammettere che la pianta dapprima immune al parassita, diventi sensibile solo ad un determinato stadio di sviluppo del patogeno, il quale ad un determinato momento del suo ciclo vitale deve secernere delle particolari sostanze (secondo alcuni si tratterebbe di ormoni), che diffondendosi da cellula a cellula eccitano i tessuti a proliferare, originando un caratteristico tessuto di neoformazione. D'altra parte l'età della pianta al tempo dell'infezione deve giocare un ruolo importante, in quanto tessuti, che hanno oltrepassato una determinata età, perdono la capacità di reagire e di riacquistare carattere meristematico, come accade invece nei tessuti più giovani.

Il micelio responsabile, almeno in un primo tempo, della neoformazione è quello emateinofilo (come vedremo in seguito), il quale però fino a un certo stadio è del tutto innocuo, ciò che piega l'apparente integrità dei tessuti rilevabile sia macroscopicamente, che entro certi limiti microscopicamente. Il fatto di aver trovato micelio nel fusto a distanza notevole dalla zona lesa non deve indurre a credere che sia così in ogni pianta. Altre sezioni eseguite su altre piante sempre a 20 cm. sotto la lesione hanno mostrato i tessuti esenti da micelio e senza traccia microscopica di lesioni.

Fusto: tumori giovani

Sezionando il fusto in corrispondenza dei tumori giovani, si osservano subito due tessuti ben differenziati: uno normale e uno di neoformazione, iperplastico (tav. II, fig. 1).

a) Tessuto normale (tav. I, fig. 4 e tav. II, fig. 4). Il micelio della zona normale è costituito esclusivamente da ife emateinofile distribuite, non molto numerose, nel parenchima fondamentale e anche nella zona dei fasci, e precisamente nel parenchima liberiano e in quello legnoso. Tali ife sono intercellulari, con numerose ramificazioni o austori che inviano entro le cellule; più spesso però esse sono intracellulari e trapassano da una cellula all'altra. Attorno a qualche ifa — anche nell'interno delle cellule del parenchima fondamentale — è stata osservata una guaina; in nessun caso però questa si mostra così spessa e così evidente come la si può osservare attorno alle ife che si trovano nell'interno dei vasi legnosi.

Le cellule in questa zona non sembrano soffrire in modo sensibile della presenza del micelio; infatti esse hanno un aspetto del tutto normale; il citoplasma è scarso, trattandosi di cellule vecchie, il nucleo per lo più eccentrico, ovale o sferico, mostra la cromatina disposta a masse e uno o due grossi nucleoli di tipo acidofilo (con l'eosina assumono una bella colorazione rossa).

b) Tessuto di neoformazione (tav. II, figg. 1–3 e tav. III, figg. 1–4). I primi nuclei di formazione del tumore (nuclei di neoproduzione) si formano nella parte periferica del parenchima fondamentale, all'esterno della regione dei fasci fibro–vascolari periferici. Subito dopo entra in attiva proliferazione anche l'epidermide. I nuclei di neoproduzione vanno aumentando e differenziano cellule ricche di protoplasma a carattere embrionale, ossia con pareti sottili, nucleo relativamente grosso, in cui sono visibili 1–2 nucleoli acidofili e citoplasma abbondante. In questo tessuto iperplastico si osservano anche cellule a carattere ipertrofico, notevolmente ingrossate con nucleo pure ipertrofico e 3–4 grossi nucleoli.

Questi ammassi si fondono rapidamente fra loro e danno così origine e delle tumefazioni visibili macroscopicamente. Queste continuano ad aumentare di volume per la moltiplicazione di tutti questi elementi; però in alcuni punti la moltiplicazione è più rapida e così compaiono all'interno di questi giovanissimi tumori numerosi nuclei di cellule più giovani. Queste cellule sono facilmente distinguibili per essere più piccole, per avere il nucleo più grosso relativamente al loro diametro (talora hanno anche due nuclei). Si sono osservate anche delle cariocinesi. Le cellule, per così dire, più vecchie che formano l'ammasso tumorale, sono a contorno rotondeggiante in sezione trasversale, mentre in sezione longitudinale sono irregolarmente rettangolari. Tali cellule presentano una disposizione abbastanza regolare in file longitudinali.

Quando il tumoretto ha raggiunto dimensioni un pò maggiori, allora si differenziano in esso dei cordoni di cellule più strette, allungate nella direzione dell'asse maggiore del tumore, cioè normalmente alla sezione trasversale del fusto, ricche di citoplasma e con un nucleo fusiforme o allungato. Tali cordoni non sono altro che fasci pre–vascolari. In seguito in essi si differenziano elementi vascolari che si dispongono normalmente all'asse del fusto con una certa irregolarità. Il fatto che più colpisce in questa serie di osservazioni è che questa massa di tessuto di neoformazione è all'inizio priva di ife e quindi l'azione del micelio deve essere un'azione a distanza. Questo fatto, che ho già messo in evidenza in una nota a parte, non è nuovo nella micologia, essendo già stato osservato che alcuni Mixomiceti, come la *Plasmodiophora brassicae* e la *Tetramyxa parasitica*, determinano nelle cellule vicine a quelle invase, ancorchè prive del parassita, la capacità di dividersi.

In un secondo tempo (e solo in un secondo tempo) i giovani tumori vengono invasi dalle ife fungine, le quali originano in seguito degli ammassi più grandi eosinofili che hanno azione distruttrice sulle cellule neoformate. La eosinofilia del micelio si può spiegare ammettendo che questo assorba proteine dal citoplasma della cellula ospite, in vista delle formazioni delle spore.

Fusto: tumori vecchi

I tumori si evolvono, ma tuttavia si mantiene sempre una netta distinzione tra il tessuto normale ed il tessuto iperplastico.

a) Tessuto normale. – Le ife sono presenti anche nel tessuto normale, come già abbiamo osservato nei tumori giovani, ma esse sono sempre meno abbondanti che nel tessuto iperplastico. Le ife che si sono osservate nel parenchima fondamentale sono sempre del tipo delle emateinofile, le quali penetrano nelle cellule e le attraversano mandando in ciascuna uno o più rami e sovente si appoggiano sui nuclei. Non mancano casi in cui i rami provengono anche da ife diverse. I nuclei del tessuto normale non mostrano alterazioni degne di rilievo; solo qualche volta il loro contorno appare deformato, qualche altra si presenta diviso in lobi. Qualche nucleo poi, che ha già le ife addossate, si presenta ingrossato, con vacuolizzazione del suo contenuto e con ammassi di cromatina più colorati sparsi nel suo interno. Le cellule parassitate non sono limitate al parenchima fondamentale, sebbene queste siano le più numerose, ma si estendono agli elementi del libro e ai vasi legnosi. Certe ife seguono il percorso dei vasi, incuneandosi

tra il vaso stesso e le cellule parenchimatiche vicine; quando l'ifa penetra nel vaso, si osserva spesso che essa si provvede di una spessa guaina. Che la guaina venga prodotta da una semplice causa meccanica e cioè dall'introflessione della parete del vaso a mò di dita di guanto sotto la spinta dell'ifa penetrante è da escludersi, anzitutto per il notevole spessore della parete in questo stadio e in secondo luogo perchè, se così fosse, la guaina dovrebbe essere, a causa dello stiramento subito, alquanto più sottile all'estremità che non alla zona d'origine, il che non avviene. Le ife emateinofile misurano in media 1,5–2,5 μ di diametro. È però difficile da stabilire il diametro di queste ife essendo esse sovente molto irregolari, spesso oidiformi, rigonfiate.

b) Tessuto iperplastico. Le caratteristiche di questo tessuto sono molto simili a quelle descritte nello stadio precedente, naturalmente con alterazioni più spinte. Si osservano a quest'epoca delle grosse lacune originate dalla lisi completa dei tessuti. Queste lacune sono occupate da grandi ammassi di ife eosinofile. Tali ife sono capaci di imbibirsi facilmente e in modo stabile di acqua, probabilmente per la presenza di sostanze mucillagginose, come si rileva dalla difficoltà di disidratare i preparati. Sulle modalità con cui avviene la distruzione delle cellule sarà ampiamente riferito in seguito. Nelle zone ancora integre, non occupate dal micelio, il tessuto presenta le caratteristiche di quello più sopra descritto; le cellule, non molto grandi, con citoplasma abbondante, presentano un grosso nucleo con uno o due nucleoli ben visibili, per lo più acidofili. La massa è attraversata da cordoni prevascolari e da fasci fibro vascolari già formati con elementi xilematici e liberiani. La loro disposizione è sempre caotica, ma prevalentemente normale alla sezione trasversale del fusto.

Si osservano anche, sebbene meno numerosi che nello stadio precedente, ammassi di cellule più giovani destinate evidentemente all'accrescimento del tumore.

Acido nucleinico. – Per farci un concetto più concreto dell'infezione abbiamo determinato nei giovani tumori del fusto il rapporto $\frac{\text{proteina}}{\text{acido nucleinico}}$.

Per queste ricerche abbiamo colorato le sezioni con una miscela di un terzo di soluzione acquosa di fucsina acida al 0,5 %, un terzo

di soluzione acquosa di verde di metile al 0,5 % e un terzo di soluzione tamponata a diversi pH*. Ed ecco i risultati ottenuti:

pH 3,5. – Nelle cellule della parte tumorale si osserva che i nuclei e il citoplasma sono rossi e altrettanto dicasi delle cellule della zona normale, fatta eccezione per le membrane lignificate che sono verdi. I nuclei dei giovani ammassi cellulari di neoproduzione presentano numerosi granuli cromatici di colore verde. Le membrane delle fibre sono leggermente verdi.

pH 4. – Nelle cellule della zona tumorale i nuclei dei giovani ammassi di neoformazione presentano una maggiore quantità di granulazioni azzurre in confronto allo stadio precedente. Gli ammassi verdi sono sempre sotto forma granulare. In alcuni rari nuclei il nucleolo è verde, mentre il rimanente è rosso. Talora nello stesso nucleo, accanto a nucleoli rossi, si notano anche nucleoli verdi.

pH 4,7. – La colorazione verde dei nuclei è leggermente più accentuata. Per il resto nulla di mutato in confronto alle sezioni colorate con la soluzione a *pH* 4.

pH 5. – Nulla di mutato rispetto alle sezioni colorate con la soluzione a *pH* 4,7.

pH 5,5. – Tutti i nuclei sono verdi tranne qualche eccezione nel parenchima fondamentale, dove si notano ancora nuclei parzialmente rosa. I nucleoli sono pure verdi. Il citoplasma è quasi incolore. Negli ammassi di cellule più giovani il citoplasma è verde azzurro.

In complesso si osserva che a *pH* 3,5 compaiono colorati in verde solo i nuclei degli ammassi di neoproduzione più giovani. A *pH* 4; 4,7 e 5, la colorazione azzurra, pur rimanendo quasi caratteristica assoluta dei nuclei degli ammassi più giovani, va aumentando di intensità e talora alcuni nucleoli appaiono già azzurri; a *pH* 4 però tutta la massa del parenchima fondamentale del fusto ed anche quasi completamente la massa tumorale è ancora rossastra. Solo a *pH* 5,5 tutti i nuclei indistintamente divengono azzurri. La conclusione che si lascia trarre da questi rilievi è che nei nuclei dei giovani ammassi di neoformazione si trova una quantità di acidi nucleinici superiore a quella che si riscontra in quelli delle cellule tumorali vecchie e in quelle degli altri tessuti. Lo stesso citoplasma delle cellule tumorali giovani contiene una quantità di acidi nucleinici superiore a quella del citoplasma delle altre cellule, e lo stesso fatto si osserva nei nucleoli delle cellule tumorali. Questa dovizia di acidi nucleinici nei tumori, specialmente giovani, costituisce del resto un fatto generale in biologia.

---

* Ceruti, A. Il rapporto acido nucleinico–proteina rivelato nel nucleo con colorazioni in soluzioni ossi–regolatrici. *Archivio Bot.*, 1942. vol. XVIII.

Asse della spiga femminile 55 giorni dopo l'infezione
(tav. IV, figg. 1–4 e tav. V, fig. 2)

Una sezione dell'asse della spiga femminile 55 giorni dopo l'infezione mostra disseminati nel parenchima numerosi ammassi di cellule più piccole, con nucleo relativamente grosso e citoplasma abbondante i quali non sono altro che fasci pre–vascolari.

Si osservano inoltre vasti ammassi di micelio, il quale induce nei tessuti lesioni notevoli.

Le cellule si presentano in tutti gli stadi della malattia, da quello in cui è già avvenuta la distruzione del protoplasma, ad opera del patogeno, a quello in cui il micelio non è ancora penetrato.

L'ifa si presenta di dimensioni molto varie; essa è ramificata, anche quando ha decorso intercellulare, ma presenta una ramificazione più estesa quando ha decorso intracellulare, nel qual caso le ramificazioni sono ravvicinatissime, per lo più non molto lunghe e tozze. In corrispondenza di queste ramificazioni intracellulari, l'ifa si presenta quasi sempre settata e queste ramificazioni cortissime sono diritte o più o meno sinuose, generalmente con l'apice un pò più sottile o più dilatato. Queste ramificazioni sono degli austori oppure ife più lunghe, probabilmente esse danno origine ad altre ife di diffusione. Alcune delle ultime ramificazioni intracellulari prendono l'aspetto oidiforme per essere costituite da tanti segmenti un pò globosi sovrapposti. Tutte le ife sin qui descritte si trovano specialmente alla periferia dell'ammasso micelico tumorale. Esse sono leggermente emateinofile, specialmente quelle intercellulari. Le ife invece che costituiscono la parte essenziale dell'ammasso che darà origine alle clamidospore, sono eosinofile, leggermente più sottili, di spessore pure irregolare, orientate nelle più svariate direzioni, sinuose, arcuate, poco ramificate, a contenuto omogeneo granuloso, con setto. Non esistono unioni a fibbia. Le ife emateinofile sono poco lesive di fronte al protoplasma. Le ife che accennano ad una eosinofilia sono molto più lesive e sono quelle che penetrano nel citoplasma, nel quale è difficile stabilire le lesioni prodotte, perchè in questo stadio il citoplasma è assai scarso ed è solo rappresentato dai veli che si trovano contro le membrane, dai veli che avvolgono i granuli di amido e da quelli attorno al nucleo. Frequentemente l'ifa si mette in rapporto col nucleo; con le sue digitazioni lo intacca fortemente e lo distrugge. Sovente però le ramificazioni dell'ifa dentro la cellula non giungono in un primo tempo fino al nucleo e questo pare soffrire poco della loro presenza intracellulare. Il nucleo che è vicinissino alle ife presenta fenomeni di vacuolizzazione (questo

è il primo fenomeno della lesione nucleare) che porta a fenomeni di carioressi della cromatina che viene a costituire tanti granuli dentro al nucleo, mentre va perdendo il suo normale aspetto. Le cellule dei fasci che si trovano vicini agli ammassi delle ife mostrano, anche senza che vi sia una penetrazione delle ife, una maggiore granulosità ematoinofila del nucleo, mentre parecchi nuclei del parenchima, che sono ancora relativamente distanti dal patogeno, presentano un aspetto normale, coi nucleoli e la cromatina a disposizione regolare.

In seguito il nucleo si deforma notevolmente e dalla parte dove si trovano le ife o l'ifa, esso si sfrangia per probabile lisi enzimatica. La lisi deve essere molto rapida perchè i nuclei in tali condizioni sono alquanto rari.

Le cellule dei fasci presentano una maggiore resistenza di fronte all'invasione del fungo; le ife invadono per lo più il parenchima fondamentale, raramente i fasci i quali talora paiono inglobati dall'ammasso micelico, senza presentare peraltro segni di sofferenza.

Processi evolutivi dei costituenti cellulari dell'asse della spiga

Per farci un concetto più concreto della istopatologia del mais parassitato dall'*U. maydis* abbiamo voluto esaminare il comportamento di alcuni componenti tipici delle cellule assiali della spiga femminile 55 giorni dopo l'infezione e all'uopo abbiamo esaminato il comportamento dell'amido, delle membrane cellulari e dell'acido nucleinico nelle cellule parassitate. Ecco quanto abbiamo osservato al riguardo.

a) Amido. – L'amido resiste più del protoplasma perchè scompare solo dove c'è una grande quantità di ife. Colorando con la soluzione iodo–jodurata si scorgono infatti cellule invase dalle ife del fungo che presentano ancora integro il loro patrimonio di amido. Solo alla periferia dell'ammasso micelico, dove le cellule sono completamente distrutte, vi è una forte demolizione di amido o anche la sua scomparsa. Granuli di amido si trovano però ancora in mezzo all'ammasso micelico verso la periferia. Le lesioni sono notevoli dove le ife sono eosinofile, quasi nulle dove sono emateinofile.

b) Membrane cellulari. – Per questo esame le sezioni sono state trattate con cloruro di zinco jodato. Le lesioni riguardanti le membrane cellulosiche vanno di pari passo con quelle dell'amido. Le ife intercellulari non portano nessun danno alla membrana cellulosica. Solo quando si osserva l'invasione del micelio, allora alla periferia si osserva la frantumazione delle membrane con la presenza di pezzi di membrana avvolti dalle ife in mezzo agli ammassi del

micetoma. Questa digestione delle membrane è molto lenta perchè alla periferia del micetoma si trova uno schiacciamento delle cellule che mostra che il micetoma cresce più rapidamente di quanto non vengano distrutte le membrane. Alla periferia dell'ammasso micelico si trovano anche ammassi di amido, il che ha il medesimo significato. Si scorge quindi una più rapida distruzione del protoplasma e una più lenta digestione dell'amido e della cellulosa.

c) Acido nucleinico. – Per quanto riguarda il contenuto in acido nucleinico, non si notano differenze notevoli fra i diversi elementi. Infatti i nuclei normali colorati col metodo Ceruti mostrano la medesima reazione dei nuclei delle cellule ammalate. È da notare che i nuclei dei parenchima dei fasci presentano una netta cianofilia a *pH* 4,9, mentre i nuclei del parenchima fondamentale presentano cianofilia solo a *pH* 5,3, che sta a dimostrare che nei nuclei del parenchima perivasale vi è una maggiore quantità di acido nucleinico. I nuclei delle cellule invase dall'ifa non presentano nessuna variazione del loro contenuto in acido nucleinico. Infatti se appartengono al parenchima fondamentale, essi presentano una cianofilia a *pH* 5,3, invece se appartengono al parenchima dei vasi, presentano una cianofilia solo a *pH* 4,9. Si vede con ciò che i nuclei dell'asse della spiga femminile non reagiscono all'infezione fungina, per quanto riflette la loro composizione chimica. Ciò si deve mettere in relazione col fatto che nell'asse della spiga femminile, e differenza di quanto accade nel fusto, non si hanno formazioni tumorali, come si è rilevato dalla mancanza degli ammassi di neoproduzione.

Il protoplasma delle ife fungine è molto povero di acidi nucleinico perchè anche a *pH* 5,4 è ancora eritrofilo.

Come abbiamo accennato in principio della presente nota oltre al fusto e all'asse della spiga femminile abbiamo preso in esame le brattee involucrali, la cariosside nei diversi stadi di sviluppo e la foglia. Ecco quanto è risultato da queste osservazioni.

Brattee involucrali

Prima di prendere in considerazione la cariosside nella sua parte essenziale, che merita uno studio a parte per le trasformazioni del tutto particolari che essa subisce, abbiamo voluto studiare le alterazioni delle brattee che circondano le spighette. All'uopo queste furono

delicatamente separate dalla cariosside, incluse in paraffina e colorate parte con la ematossilina ed eosina, parte con la tionina. Anche ad occhio nudo è facile osservare che il fungo induce nelle brattee una iperplasia notevole, fatto che viene poi confermato dall'esame microscopico. La sezione colorata, col metodo sopra descritto, mostra infatti che la grande massa della glumetta è costituita da tessuto iperplastico.

Si tenga al riguardo presente che nel tessuto normale le brattee in una pannocchia giovanissima sono costituite da un'epidermide esterna formata da uno strato di cellule rettangolari, con nucleo centrale sferico in cui è ben visibile la cromatina disposta a masse e un nucleolo. A questa segue un numero di strati, variabile a seconda del punto della glumetta che si considera, formati da cellule a contorno irregolare, allungate secondo l'asse maggiore della glumetta, appiattite e stipate alla periferia, a contorno rettangolare e più lasse nella rimanente parte. Queste cellule hanno citoplasma vacuolizzato e un nucleo fusiforme, allungato in quelle periferiche, ovale o sferico nelle altre cellule, centrale o eccentrico, con la cromatina disposta a masse e un nucleolo. Queste brattee aderiscono all'ovario, ed il numero di strati di cellule che costituiscono la brattea è, come già si è detto, variabile; comunque lo spessore delle brattee è sempre esiguo.

Ben diverso è invece l'aspetto delle brattee parassitate. Sezionate trasversalmente, esse appaiono completamente avvolte da un'epidermide di un solo strato di cellule rettangolari con grosso nucleo, dalla quale si passa a un tessuto, che è quello che forma la massa fondamentale, costituito da cellule ordinate in file longitudinali, a contorno rotondeggiante se viste in sezione trasversale, e piuttosto rettangolari se viste in sezione longitudinale, ricche di citoplasma, separate tra loro da piccoli spazi intercellulari, con uno o due grossi nuclei per lo più centrali e sferici. Nei nuclei sono ben visibili la cromatina disposta a masse, e un grosso nucleolo acidofilo. Numerose sono le cariocinesi. In mezzo a queste cellule si osservano aggruppamenti di cellule ancora giovanissime assai ricche di citoplasma e con grosso nucleo. Questi aggruppamenti hanno l'aspetto di nuclei di neoproduzione. Si osservano anche cordoni procambiali, e che siano tali è dimostrato dal fatto che in uno stadio più avanzato si vedono già in questi cordoni elementi cribrosi e qualche vaso legnoso. I fasci così costituiti presentano una disposizione assai irregolare, un pò in tutte le direzioni.

Le ife sono visibili talora nei vasi; ma la grande massa di micelio si trova nelle cellule del tessuto fondamentale.

Anche qui le ife emateinofile non appaiono lesive come sono invece quelle eosinofile, le quali ultime, sottili e molto ramificate, penetrano nelle cellule o, negli stadi più avanzati, formano degli ammassi che occupano le cavità originate dalla distruzione delle cellule ad opera delle ife medesime. Con la tionina in soluzione pressocchè neutra le ife emateinofile, meno lesive, si colorano in rosso, il che significa che l'ifa ha una funzione anionica notevole e quindi ha la capacità di assorbire i cationi. Non sono invece metacromatiche le ife intracellulari più lesive. Per quanto riflette la lesione provocata da tali ife, mentre i nuclei in prossimità delle ife emateinofile non sembrano soffrire della presenza del patogeno, il nucleo, al quale si appoggia l'ifa eosinofila, mostra sovente delle alterazioni.

Esso in un primo tempo si vacuolizza e in alcuni casi il suo diametro s'ingrandisce sensibilmente. La colorabilità del nucleolo diminuisce qualche volta sino a scomparire e la cromatina si omogeneizza, in modo che non riesce più possibile distinguere le strutture nucleari, In alcune cellule si è osservata una strana deformazione dei nuclei, che appaiono ora a contorno lobato (a due – tre lobi per lo più), ora prolungati, da un lato, in una punta. Il diametro di questi nuclei è talora un pò maggiore di quelli normali, ma il nucleolo e la cromatina conservano per lo più una disposizione regolare. È da osservare però che questa deformazione dei nuclei non è esclusivamente prodotta dalle ife eosinofile, osservandosi anche in vicinanze di ife emateinofile, o addirittura in cellule nelle quali l'ifa non è penetrata, perciò resta da stabilire fino a qual punto queste deformazioni siano da ritenersi un fenomeno patologico.

Sovente anche in presenza delle ife lesive i nuclei conservano la perfetta colorabilità dei nucleoli e non sembrano soffrire affatto della presenza del patogeno, almeno in un primo tempo. Infatti si osservano nuclei integri anche in vicinanza dell'ifa e solo in un secondo tempo essi si sfrangiano unilateralmente per probabile lisi enzimatica operata dall'ifa; infatti la parte sfrangiata è quella che si appoggia all'ifa. Alcune cellule presentano due nuclei, di cui uno appare normale mentre l'altro talora presenta una diminuita colorabilità del nucleolo e un aspetto più omogeneo della cromatina.

Per quel che riguarda la posizione del nucleo, non pare che esso muova incontro all'ifa. Infatti se in molte cellule parassitate si osserva che l'ifa è in rapporto col nucleo, non mancano casi in cui il nucleo si trova in prossimità della parete opposta a quella in cui è penetrata l'ifa.

Cariosside (tav. VI, figg. 1-4)

Prima di descrivere i mutamenti cui va incontro la cariosside di mais, giova dare un cenno sull'anatomia della spighetta e su quella dell'ovulo prima e dopo la fecondazione.

Secondo le ricerche di Randolph, la spighetta del mais è avvolta alla base da due brattee (glume) e consta di due fiori, di cui il superiore è fertile, mentre l'inferiore di regola abortisce. Entrambi i fiori sono a loro volta circondati da due brattee (glumette).

Le parti principali dell'ovario sono (fig. A):

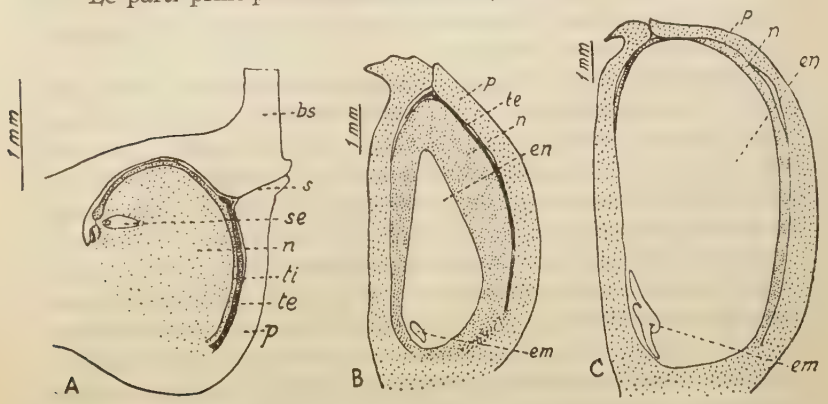


Fig. A. – Schema dell'ovario maturo in sezione longitudinale: *bs*, base dello stilo; *s*, canale stilare; *se*, sacco embrionale; *n*, nocella; te, tegumento esterno; *ti*, tegumento interno; *p*, parete dell'ovario

Fig. B. – Schema dell'ovulo di *Zea mays* 10 giorni dopo la fecondazione: *em*, embrione; *en*, endosperma; *n*, nocella; *te*, tegumento esterno; *p*, parete dell'ovario

Fig. C. – Schema dell'ovulo di *Zea mays* 18 giorni dopo la fecondazione: *em*, embrione; *en*, endosperma; *n*, nocella; *p*, parete dell'ovario

Nella parte superiore lo stilo, sotto cui si osserva una protuberanza detta canale stilare, così chiamata da Guignard che credeva erroneamente che questo canale servisse a condurre il polline all'ovulo. La parete dell'ovario consta di un parenchima a pareti sottili e racchiude l'ovulo che riempie quasi tutta la cavità ovarica. L'ovulo è avvolto da due tegumenti; uno interno che lo circonda tutto eccetto che in corrispondenza del micropilo e uno esterno che invece manca dal micropilo fino al punto di attacco dello stilo. Il sacco embrionale occupa una piccola porzione della nocella e si trova in corrispondenza della zona micropilare, ossia dalla parte opposta al canale stilare.

Dopo la fecondazione si differenziano nel sacco embrionale l'embrione e l'endosperma, le cui cellule si moltiplicano in seguito assai attivamente. Anche il tessuto antipodale, che si trova nella parte del sacco embrionale opposta all'embrione, non solo persiste ma talora acquista la capacità di dividersi. La presenza del tessuto antipodale non è però costante. Quando esiste, esso mostra una notevole rassomiglianza con quello dell'endosperma. La nocella viene digerita man mano che l'endosperma si sviluppa e così pure i tegumenti. La parete dell'ovario evolvendosi dà origine al pericarpio. Le figure B e C dànno una rappresentazione schematica dell'ovario di *Zea mays* rispettivamente 10 e 18 giorni dopo la fecondazione, secondo Randolph.

Premesse queste notizie di carattere generale sulla anatomia dell'ovulo normale, ecco che cosa è risultato dai nostri esami istologici sulla cariosside lesa.

Le sezioni furono praticate quando la cariosside normale era già giunta a sviluppo quasi completo. Sullo stato delle cariossidi non lesionate verrà riferito più oltre. Le cariossidi (in corso di sviluppo) lese erano invece avvolte da glume notevolmente ipertrofiche, dalle quali furono accuratamente separate, dopo di che si procedette al fissaggio, all'inclusione, alle colorazioni con la solita tecnica. Le sezioni longitudinali in serie dello spessore di 15, μ mostrarono nelle cariossidi in via di sviluppo i seguenti tessuti:

All'interno l'endosperma. Questo tessuto si presenta di forma ovale, a più cellule: queste sono a contorno irregolare, isodiametriche, ricche di citoplasma, provviste di 1–2 grossi nuclei, per lo più eccentrici, alla loro volta provvisti di 1–2 grossi nucleoli acidofili. Anche la cromatina è ben visibile, distribuita in granuli. Le cellule periferiche dell'endosperma sono più piccole; ad esse segue uno strato esterno formato da cellule a sezione quasi quadrata con citoplasma abbondante e nucleo con caratteri eguali a quelli delle altre cellule nocellari. Questo strato costituisce l'epidermide.

Il carattere comune a tutti gli ovuli sezionati è che l'endosperma è perfettamente integro, almeno dal punto di vista anatomico e citologico. Non si osserva in esso alcuna lesione cellulare. Ma il fatto più sorprendente è che il micelio, che pure è abbondante nella nocella e nei tegumenti dell'ovario, non è presente neppure in tracce nell'endosperma. Questo fatto spiega l'assenza di alterazioni in questo tessuto. Nella parte inferiore dell'endosperma si osserva l'embrione, il quale

si presenta nella maggior parte delle nostre sezioni come un ammasso claviforme di cellule isodiametriche, con nucleo relativamente grosso e citoplasma abbondante. Dai raffronti con l'ovulo normale è risultato che l'embrione aveva circa 10 giorni di età, ed infatti l'endosperma aveva una lunghezza di circa 2 mm. Questi dati non sono privi di importanza, in quanto dimostrano il ritmo di evoluzione dell'ovulo parassitato nei confronti di quello sano. Non tutti gli ovuli erano però giunti a questo stadio, essendo alcuni più sviluppati e altri meno, come si poteva dedurre dalle dimensioni della nocella ancora abbondantemente presente.

L'embrione al pari dell'endosperma è completamente privo di ife miceliche. Esternamente all'endosperma si osserva la nocella, la quale consta di parecchi strati di cellule parenchimatiche a forma irregolare, allungate secondo l'asse maggiore dell'ovulo. Queste cellule hanno un nucleo ovale provvisto a sua volta di un grosso nucleolo. In questo tessuto, a differenza di quanto si osserva nell'endosperma e nell'embrione, sono molto abbondanti le ife; queste sono — almeno nello stadio da noi preso in esame — tutte del tipo delle ife emateinofile, molto grosse, intercellulari, ma sovente anche intracellulari, di diametro variabile e assai ramificate. Le ife intercellulari inviano spesso digitazioni (austorii) entro le cellule. In molti casi le ramificazioni dell'ifa si appoggiano sul nucleo. Quest'ultimo però non appare per nulla sofferente: i nuclei e la cromatina hanno una disposizione perfettamente normale.

Dal complesso risulta che il tessuto nocellare subisce per azione del micelio modificazioni di scarsa importanza; non si osserva del pari presenza di tessuto di neo-produzione, per cui si può supporre che esso non proliferi in maniera sensibile.

Nulla di interessante per quanto riguarda i tegumenti, di cui l'interno consta di 2 strati di cellule parenchimatiche a pareti sottili e l'esterno di 2–3 strati, tranne che in corrispondenza del canale stilare ove ne estistono 5. Pare che i tegumenti non siano parassitati che raramente. Maggiori modificazioni subisce la parete dell'ovario, da cui deriva il pericarpio. Il tessuto costituente la parete dell'ovario è assai diverso dal precedente e anche ad un primo esame non è difficile accorgersi che è notevolmente proliferato. Esso presenta verso la parte più interna due file di cellule epidermiche rettangolari strette e allungate secondo l'asse maggiore dell'ovulo e più esternamente una fila di cellule e sezione quasi quadrata. Tutte queste cellule hanno 1–2 grossi nuclei e citoplasma abbondante.

L'epidermide esterna consta di un solo strato di cellule a sezione quadrata. Nel tessuto compreso tra le due epidermidi, parenchimatico, a pareti sottili, si trovano disseminati numerosi nuclei di neo-produzione,

le cui cellule sono piccole, con nucleo relativamente grosso, che occupa quasi tutta la cellula. Questi raggruppamenti di cellule (nuclei di neoproduzione), che abbiamo già descritto a proposito dell'anatomia del fusto, sono evidentemente destinati ad accrescere la massa delle pareti dell'ovulo determinandone un'attiva proliferazione. Si osservano anche cordoni di cellule, che hanno probabilmente l'ufficio di fasci prevascolari. Questi sono abbondanti e disposti un pò in tutte le direzioni, prevalendo però sempre quella dell'asse maggiore dell'ovulo. Il micelio è assai abbondante, ciò che spiega l'attiva proliferazione dei tessuti: quello emateinofilo presenta gli stessi caratteri già osservati nella nocella. Qui però, oltre al micelio di tipo emateinofilo è presente pure in grande quantità di micelio eosinofilo, il quale occupa in grandi ammassi le cavità originate dalla lisi delle cellule da esso distrutte. La distruzione delle cellule procede come nei casi precedentemente descritti.

Per quel che riguarda le cariossidi sane della stessa pannocchia, le sezioni in serie eseguite hanno riconfermato che le cariossidi sane si evolvono regolarmente; l'embrione e lo scutello sono già ormai giunti ad uno stadio avanzato di sviluppo; la nocella è stata quasi completamente digerita, per essere sostituita dall'albume; il pericarpio appare di spessore ridotto rispetto alla parete dell'ovario.

Dal complesso delle osservazioni sull'ovulo risulta che questo soggiace sotto l'azione del micelio a svariate modificazioni. Prima di tutto è evidente che esso viene arrestato nel suo sviluppo dopo la fecondazione, come risulta dal fatto che l'embrione e l'endosperma si ritrovano in uno stadio ancora primordiale, corrispondente nella maggior parte delle nostre sezioni allo stadio di 10 giorni dopo la fecondazione, mentre la nocella è ancora abbondantemente presente. Tanto l'embrione che l'endosperma però non vengono parassitati.

Questo fatto viene a confermare l'azione a distanza del micelio già messa in evidenza nel fusto, azione che qui viene a essere dimostrata in modo più evidente. Infatti il micelio è presente solo nel tessuto nocellare, il quale però non subisce modificazioni. Questo tessuto non prolifera e neppure regredisce, come invece avviene nell'ovulo normale dopo la fecondazione.

Una notevole proliferazione si osserva invece a carico delle pareti dell'ovario, le quali sono invase abbondantemente sia dal micelio emateinofilo, che da quello eosinofilo, che provoca altresì la lisi di alcuni gruppi di cellule. Il processo nel suo complesso ha i caratteri sia dell'ipotrofia che della iperplasia: ipotrofia a carico dell'ovulo, iperplasia a carico delle pareti dell'ovario, le quali in un secondo tempo vanno incontro a fenomeni di distruzione e di lisi delle cellule.

Foglia (tav. V, figg. 1, 3, 4)

Lo studio della genesi dei tumori nelle foglie può essere fatto solo con sezioni di materiale molto giovane, in cui la formazione dei tumori sia appena iniziata.

La formazione dei tumori nelle foglie s'inizia con la differenziazione nel mesofillo di ammassi di cellule più giovani, a carattere meristematico (nuclei di neoproduzione), i quali confluendo, costituiscono l'abbozzo dell'ammasso tumorale. Dalla ulteriore moltiplicazione delle cellule si origina un tessuto a pareti sottili con cellule ricche di citoplasma e con un nucleo ovale o sferico, in cui è ben visibile la cromatina disposta in ammassi e con un nucleolo basofilo o acidofilo. Questo tessuto forma la massa del tumore. Non si può dire se le cellule del tessuto normale preesistenti al tessuto di neoproduzione e in seno al quale si sono differenziati i nuclei di neoproduzione vengono inglobate in quest'ammasso di tessuto iperplastico, oppure vengono distrutte; è certo però non è più possibile distinguerle dai tessuti neoformati.

Tutto il mesofillo assume i caratteri di un tessuto patologico, senza che vi sia più alcuna distinzione tra tessuto lacunoso e tessuto a palizzata. Nell'ammasso tumorale alcune cellule si moltiplicano con maggiore rapidità, per cui si possono osservare nell'interno dei giovani tumori gruppi di cellule più giovani con nucleo relativamente grosso e destinate senza dubbio ad accrescere la massa tumorale.

L'epidermide prolifera anch'essa molto presto e parecchie sue cellule risultano notevolmente ipertrofiche. Nell'ammasso tumorale si differenziano anche cordoni di cellule strette e allungate, i quali non sono altro che gli abbozzi dei fasci fibrovascolari. Infatti esaminando questo tessuto in uno stadio più avanzato, si osserva che nei cordoni si sono differenziati gli elementi xilematici e liberiani. I fasci sono disposti un pò in tutte le direzioni e non hanno un orientamento determinato.

Il micelio è costituito in un primo stadio esclusivamente da ife emateinofile le quali presentano i caratteri già riscontrati negli altri tessuti. Queste ife sono reperibili anche nel tessuto normale della foglia e allora nelle cellule non si osservano alterazioni. Solo in un secondo tempo compaiono gli ammassi eosinofili, che provocano la lisi delle cellule. Le modalità, con cui si svolge questo processo di distruzione non si differenziano da quelle precedentemente descritte.

CONCLUSIONI

I fatti meritevoli di rilievo emersi da queste ricerche si possono così riassumere:

1) Il micelio dell'*Ustilago maydis* non produce nel primo stadio di vita della pianta alcuna modificazione istologica. Solo ad una determinata età della pinta ospite e ad un determinato stadio di sviluppo del parassita compaiono le prime manifestazioni tumorali, che poi evolvono rapidamente. Nel fusto l'origine del tumore è da ricercarsi in alcuni aggruppamenti di cellule giovanissime che compaiono nella parte periferica del parenchima fondamentale. Ma il fatto che più colpisce è che questi ammassi di cellule giovanissime (nuclei di neoproduduzione) che costituiscono l'inizio della iperplasia sono del tutto privi di micelio. Ne discende che nell'*U. maydis* l'azione del micelio è un'azione a distanza, molto più spinta di quella osservata da altri autori nella *Tetramyxa parasitica* e nella *Plasmodiophora brassicae*, in quanto nel mais parassitato da Ustilago Maydis non si dividono solo le cellule immediatamente vicine a quelle infette, ma anche quelle notevolmente distanti. Ne risulta così un notevole ammasso tumorale, i cui tessuti sono completamente differenti da quelli normali del fusto.

Nella foglia si verifica un fatto analogo, ma qui i nuclei di neoproduzione si differenziano in tutta la massa del tessuto normale, sicchè alla fine non si osserva più alcuna distinzione tra il tessuto normale e il tessuto iperplastico, ma tutto il mesofillo diviene patologico. Nelle parti colpite è poi impossibile distinguere il tessuto a palizzata dal tessuto lacunoso.

Le brattee involucrali proliferano anche abbondantemente e alla fine esse sono costituite quasi esclusivamente da tessuto di neoprozione. Proliferazione (ma assai meno notevole che nelle brattee involucrali) si osserva nella parete dell'ovario. L'ovulo viene al contrario inibito nel suo sviluppo dopo la fecondazione per cui la nocella non regredisce, e così pure i tegumenti, mentre l'embrione e l'endosperma rimangono ipotrofici. Ma mentre la parete dell'ovario e la nocella sono invasi da micelio, l'embrione e l'endosperma ne sono completamente privi. Anche qui si rivela dunque un'azione del micelio a distanza, azione però di natura opposta rispetto a quella osservata negli altri organi. Infatti mentre nel fusto, nelle foglie e nella parete dell'ovario si ha un'azione iperplastica ossia esaltatrice della moltiplicazione cellulare, nell'ovulo si osserva un'azione ipotrofica, ossia inibitrice.

2) L'ammasso tumorale si sviluppa dal confluire dei nuclei di neoproduzione, i quali differenziano un tessuto giovane con cellule a pareti sottili, con piccoli spazi intercellulari e abbondante protoplasma. Analogamente a quanto si osserva nei primi nuclei di neoproduzione, anche il giovane tumore è privo di micelio. In un secondo tempo — e solo in un secondo tempo — compare il micelio, il quale produce lesioni rilevanti.

Nell'ammasso tumorale alcuni gruppi di cellule si moltiplicano più rapidamente, sicchè si possono osservare, sparsi nel parenchima di neoproduzione, altri aggruppamenti di cellule più piccole, con nucleo relativamente grosso, sempre prive di micelio, il cui ufficio è quello di accrescere l'iperplasia.

3) L'*U. maydis* presenta due tipi distinti di micelio, ossia un micelio a ife grosse, sempre isolate, nettamente emateinofile e un micelio a ife sottili, sempre riunite in ammassi, nettamente eosinofile. La differenza non è solo puramente morfologica, ma anche fisiologica. Infatti il micelio emateinofilo si trova prevalentemente nel tessuto normale della pianta, e non manifesta alcun carattere di lesività. Esso solo in un determinato stadio di sviluppo diviene responsabile della iperplasia per azione a distanza. Il micelio eosinofilo invade invece di preferenza il tessuto iperplastico (per quanto lo si trovi anche in quello normale) ed è il solo responsabile della lesione. Infatti il citoplasma e il nucleo appaiono in sua presenza notevolmente alterati. Si osserva che le digitazioni dell'ifa, poggiandosi sul nucleo, provocano talora la formazione di lobi, altre volte la vacuolizzazione del contenuto nucleare. La cromatina appare frammentata in minuti granuli diversamente disposti (carioressi della cromatina). Qualche volta però il contenuto si omogeneizza e non si distinguono più i componenti nucleari. Talora il nucleo si sfrangia per probabile lisi enzimatica. Non sono rari poi i casi in cui il nucleo viene parzialmente distrutto, mentre la parte libera non mostra alcun segno di alterazione. L'amido resiste notevolmente alla distruzione operata dal fungo, ma alla fine esso viene demolito. Per quel che riguarda le membrane, queste non soffrono affatto della presenza del micelio finchè questo è intercellulare, ma quando l'invasione del micelio progredisce notevolmente entro le cellule, anche le membrane vengono frammentate.

La presenza di due tipi di micelio emateinofilo ed eosinofilo si lascia spiegare col fatto che i tessuti in cui essi albergano sono ben distinti, trovandosi di regola il primo in cellule più vecchie e con evidenti segni di senescenza, il secondo in cellule giovani, ricche di protoplasma. Inoltre la formazione del tumore prelude alla formazione delle

spore e perciò è probabile che avvenga un assorbimento di proteine della pianta ospite da parte del micelio che si prepara alla sporificazione.

4) L'azione iperplastica del micelio porta ad un accrescimento continuo, sregolato delle cellule su un piano primitivo insolito o meglio aberrante da quello caratteristico della specie parassitata.

I fasci fibro–vascolari che si differenziano nel tumore hanno anch'essi un andamento disordinato senza una direzione stabilita. Il fungo viene insomma a dimostrare una spiccata attività mitogenetica, per cui i tessuti subiscono un'eccitazione alla normale potenza di moltiplicazione cellulare.

Probabilmente ciò si deve a qualche sostanza che diffondendosi da cellula a cellula eccita appunto i tessuti a moltiplicarsi.

5) L'infezione avviene per lo più precocemente, quando la pianta ha raggiunto un'altezza di circa 20 cm. ed il micelio, prima intercellulare, diviene in seguito anche intracellulare, ma l'infezione rimane sempre latente, ossia per circa due mesi la pianta non manifesta alcun segno macroscopico di sofferenza; è questo lo stadio di incubazione. In seguito vengono ad originarsi i tumori, i quali sono distrutti dal micelio eosinofilo al momento della formazione delle spore.

6) Il micelio manifesta, oltre ad una azione iperplastica, una notevole azione ipertrofica; come si può dedurre dal fatto che sono anche presenti, nell'ammasso tumorale, cellule ipertrofiche con grosso nucleo e 3–4 grossi nucleoli.

7) L'*U. maydis* non origina nella pianta ospite tumori secondari prodotti per metastasi.

8) Analogamente a quanto accade nei tumori animali (benchè non siano con questi paragonabili) i nuclei dei giovani ammassi di neoformazione contengono una quantità di acidi nucleinici maggiore che non le cellule tumorali vecchie ed ancora maggiore che le cellule degli altri tessuti. Lo stesso citoplasma delle cellule tumorali giovani contiene una quantità di acidi nucleinici superiore a quella contenuta in altri citoplasmi e altrettanto si può dire per i nucleoli.

RIASSUNTO

Viene studiata la istopatologia del mais parassitato dall'*Ustilago maydis* e vengono messi in rilievo i seguenti fatti:

Il micelio dell'*U. maydis* non produce, nel primo stadio di vita della pianta, alcuna modificazione istologica. Solo ad una determinata età della pianta ospite compaiono le prime manifestazioni tumorali

che poi evolvono rapidamente. Nel fusto i primi nuclei di formazione del tumore (nuclei di neoproduzione) sono costituiti da ammassi di cellule giovanissime che compaiono nella zona periferica del parenchima fondamentale. Tali ammassi sono del tutto privi di micelio. Si conclude così che nell'*U. maydis* l'azione del micelio è un'azione a distanza.

Nelle foglie si osserva un fatto analogo, ma qui tutto il mesofillo diviene patologico. Anche le brattee involucrali proliferano abbondantemente e analogo comportamento segna la parete dell'ovario. L'ovulo dopo la fecondazione viene inibito nel suo ulteriore sviluppo. L'embrione e l'endosperma sono a differenza delle altre parti dell'ovario, privi di micelio.

L'ammasso tumorale si sviluppa in seguito al confluire dei nuclei di neoproduzione, i quali differenziano un tessuto a cellule giovanissime, a pareti sottili, ricche di protoplasma. Tale ammasso è all'inizio privo di micelio, il quale compare poi in un secondo tempo.

L'*U. maydis* presenta due tipi di micelio: uno a ife grosse, sempre isolate, emateinofile, l'altro a ife sottili, sempre riunite in ammassi, eosinofile, il primo è poco o nulla lesivo, il secondo è notevolmente lesivo.

Il micelio oltre ad una notevole azione iperplastica ha anche una azione ipertrofica. È meritevole di rilievo che i tumori nelle loro fasi giovanili sono ricchi di acidi nucleinici.

SUMMARY

ON THE MORBID HISTOLOGY OF MAIZE ATTACKED BY *USTILAGO MAYDIS*

by Jole Scurti

The morbid histology of maize attacked by *Ustilago maydis* is studied here and it is pointed out that mycelium produces no tissue change in the first stage of the life of the plant; only at a given age of the maize plant the first tumours appear which then develop quickly. In the stem the first nuclei producing the tumours (new production cell groups) consist of groups of very young cells which appear in the peripheric zone of the basic parenchyma. As these groups of cells are quite without mycelium, we conclude that in *U. maydis* the action of the mycelium is a far–reaching one.

In the leaves we observe a similar fact, but here the whole mesophyll becomes pathological. Also the surrounding floral bracts expand into flattened structures and the ovary wall shows an analogous behaviour. The ovule after the fertilization is hindered in its further development; the embryo and the endosperm are, differently from the other ovary parts, without mycelium.

The tumour expands as the new production cell groups flow together and differentiate a tissue with very young cells with thin walls and rich in protoplasm. At the beginning the tumour is without mycelium which only appears after some time.

U. maydis shows two types of mycelium: the first with large hyphae, always isolated and coloured by the heamatein; the latter with fine hyphae always grouped in nests and coloured by the eosin; the former is very little or not harmful; the latter is very harmful.

The mycelium beside an hyperplastic action shows also an hypertrophic action.

It is worth pointing out that the tumours, specially when young, are rich in nucleic acid.

BIBLIOGRAFIA

Allen, Ruth, F. A cytological study of infection of Baart and Kanred wheat by *Puccinia graminis tritici*. *Journ. Agr. Res.*, 1923, XXIII, 3, 131–151.

Borzini, G. Ricerche sul carbone del granoturco. *Boll. Staz. Pat. Veg.*, Roma, 1935, XIII, 389–422.

Copper. Macrosporogenesis and embryosac development in *Euchlaena mexicana* and *Zea mays*. *Journ. Agr. Res.*, 1937, 55, 539–551.

Brefeld, O. Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mycologie. XI. Die Brandpilze. II. Münster 1895.

Brefeld, O. Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mycologie. XIII. Die Brandpilze, IV. Münster 1905.

Butler, E. J., and Jones, S. G. Plant pathology. London, 1949.

Ceruti, A. Ricerche sulle cause fisiche e fisico–chimiche della metacromasia del bleu di toluidina e sue applicazioni all'interpretazione dei costituenti nucleari. *Archivio Botanico*, 1940, XV, 37–113.

Christensen, J. J., and Stakman, E. C. Physiologic specialization and mutation in *Ustilago zeae*. *Phytopathology*, 1926, 16, 979–999.

Dangeard, A. Recherches histologiques sur la famille des Ustilaginées. *Le Botaniste*, 1892, 3, 240–281.

Eddins, A. H. Pathogenicity and cultural behavior of *Ustilago zeae* (Bekm.) Ung. from different localities. *Phytopathology*, 1929, 19, 885–916.

EDDINS, A. H. Pathogenicity of multisporidial and monosporidial cultures of *Ustilago zeae* (Beck.) Ung. *Phytopathology*, 1929, 19,91.

FISCHER, E. and GAUMANN, E. Biologie der Pflanzen bewohnenden parasitischen Pilze. Jena 1929.

GAUMANN, E. A. Pflanzliche Infektionslehre. Basel 1945.

GAUMANN, E. A., and DODGE, C. W. Comparative morphology of fungi. New York, 1928.

GUTTENBERG, H. v. Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen. Leipzig 1905.

HANNA, W. F. Studies on the physiology and cytology of *Ustilago zeae* and *Sorosporium reilianum*. *Phytopathology*, 1929, 19, 415–442.

HEALD, F. D. Manual of plant diseases. New York, 1926.

HEALD, F. D. Introduction to plant pathology. New York, 1943.

HURD-KARRER, A M. Effect of smut on sap concentration in infected corn stalks. *Am. Journ. of Bot.*, 1926, 13, 288–290.

KÜSTER, E. Pathologische Pflanzenanatomie. Jena 1903.

KÜSTER, E. Die Gallen der Pflanzen. Leipzig 1911.

MELCHERS, L. E. Ecologic and physiologic notes on corn smut *Ustilago zeae*. *Phytopathology*, 1921, 11, 32.

MOULTON. Extraction of auxin from maize, from smut tumors of maize and from *Ustilago zeae*. *Bot. Gazzette*, 1942, CIII, 725–739. (Riassunto in *R. A. M.*, 1943, 527).

PIEMEISEL, F. J. Some facts of the life history of *Ustilago zeae*. *Phytopathology*, 1914, 4, 411.

PIEMEISEL, F. J. Factors affecting the parasitism of *Ustilago zeae*. *Phytopathology*, 1917, 7, 294–307.

RANDOLPH, L. F. Developmental morphology of the caryopsis in maize. *Journ. Agr. Res.*, 1936, 53, 881–916.

RAY, J. Etude biologique sur le parasitisme: *Ustilago Maydis*. *C. R. Ac. Sc.* Paris, 1903, 136, 567–570.

RAWITSCHER, F. Beiträge zur Kenntnis der Ustilagineae. *Zeitschrift für Bot.*, 1912, 4, 673–706.

RICE, M. A. The austoria of certain rusts and the relations between host and pathogene. *Bull. Torr. Bot. Club*, 1927, IV. (Riass. in *R. A. M.*, 1927, 631).

RIVERA, V. Malattie delle piante. Rieti, 1942, vol. I.

RUTTLE, M., and FRASER, N. P. A Cytological study of *Puccinia coronata* Cda. on Banner and Cowra 35 oats. *Phytopathology*, 1927, 17, 748.

STAKMAN, E. C., and CHRISTENSEN, J. J. Heterothallism in *Ustilago zeae*. *Phytopathology*, 1927, 17, 827–834.

STAKMAN, E. C., and CHRISTENSEN J. J. Physiologic specialization of *Ustilago zeae* and *Puccinia sorghi* and relation to corn improvement. *Phytopathology*, 1926, 16, 84.

Stevenson, J. A., and Johnson, A. G. Nomenclature of the cereal smut fungi. *Plant Dis. Reptr.*, 1944, XXVIII, 20, 663–670. (Riass. in *R. A. M.*, 1945, 52).

Sorauer, P. Handbuch der Pflanzenkrankheiten. V. Aufl. Berlin 1932, Bd. III.

Tulasne, L. R., et Ch. Sur les Ustilaginées comparées aux Uredinées. *Ann. des Sciences naturelles*, 1847, III^e^ série, tome VII, 12–126.

Tulasne, L. R., et Ch. Second mémoire sur les Uredinées et les Ustilaginées. *Ann. des Sciences naturelles*, 1854, IV^e^ serie, tome II, 77–192.

Walter, J. M. The mode of entrance of *Ustilago zeae* into corn. *Phytopathology*, 1934, 24, 1012–1020.

Walter, J. M. Factors affecting the development of corn smut *Ustilago zeae* (Beck.) Unger. *Univ. Minnesota Agr. Exp. Station*, 1933.

Ward, H. M. Recent researches on the parasitism of fungi. *Ann. of Bot.*, 1905, 19, 1–54.

Weatherwax, P. The endosperm of *Zea* and *Coix*. *American Journ. of Bot.*, 1930, 17, 371–380.

Ricevuto il 18 marzo 1950.

STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Cesare Sibilia)
ROMA

Alberto Mezzetti

OSSERVAZIONI SULLA MORFOLOGIA E SULLA TASSONOMIA DEL *GYROCERAS CELTIDIS* (BIV.) MONT. ET CES.

La malattia

Nell'agosto del 1949, visitando un vivaio nei pressi di Roma, fui colpito dall'estrema diffusione di una epifitia sul fogliame di alcune centinaia di piantine di bagolaro (*Celtis australis*) ivi allevate. La malattia era allora nel suo pieno sviluppo: quasi ogni foglia dell'ospite presentava alcune macchie (fig. 1). Più tardi essa si diffuse ulteriormente, invadendo quasi completamente il lembo di molte foglie, senza purtuttavia causare sensibile defogliazione. L'esame microscopico portò subito all'identificazione dell'agente patogeno, il caratteristico Ifale *Gyroceras celtidis* (Biv.) Mont. et Ces.

Fig. 1. – Vegetazione di *G. celtidis* su di una foglia di *Celtis australis*.

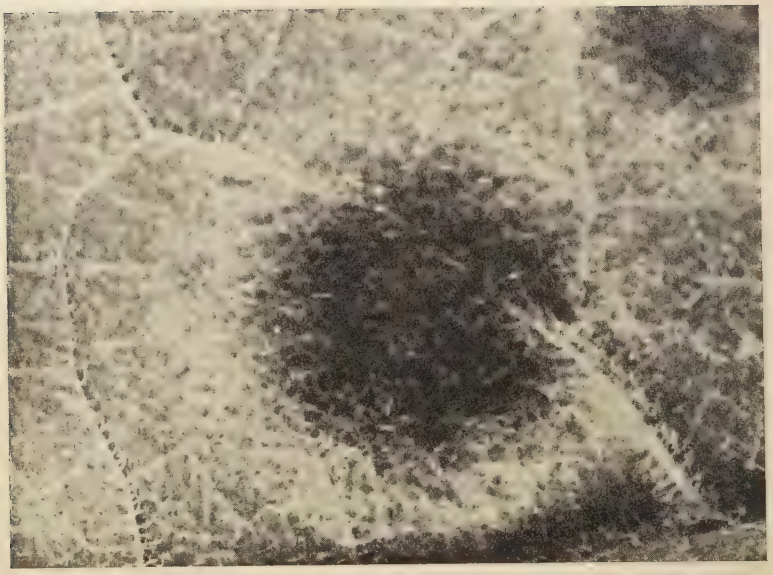


Fig. 2. – Dettaglio di una chiazza di *G. celtidis*. 7,1 ×.

Le lesioni hanno sede ipofilla. Attorno al punto, dove è avvenuta l'infezione, si forma un'areola di muffetta esterna, biancastra. Presto il centro della macchia, il cui diametro va rapidamente crescendo, assume un colore bruno olivaceo, che incupendo tende al fuligineo, ed un aspetto vellutato, mentre tutt'attorno permane un margine biancastro (fig. 2). A completo sviluppo le macchie raggiungono i 15-20 millimetri di diametro e mantengono la forma circolare, salvo il caso, molto frequente, di confluenza di aree infette adiacenti. Il margine bianco è ora scomparso sotto uno strato di polvere bruno-olivaceo-nerastra, che ricopre tutta la superficie della chiazza. Sulla pagina superiore delle macchie adulte si osserva generalmente una clorosi — più raramente una necrosi — a contorno impreciso e poco appariscente.

Il parassita in natura

L'areola di muffetta bianca e il bordo bianco delle macchie più sviluppate sono costituiti da un lasso intreccio di ife ialine sottili (di 2-4 μ di diametro), a calibro costante, intreccio adagiato sulla pagina inferiore delle foglie.

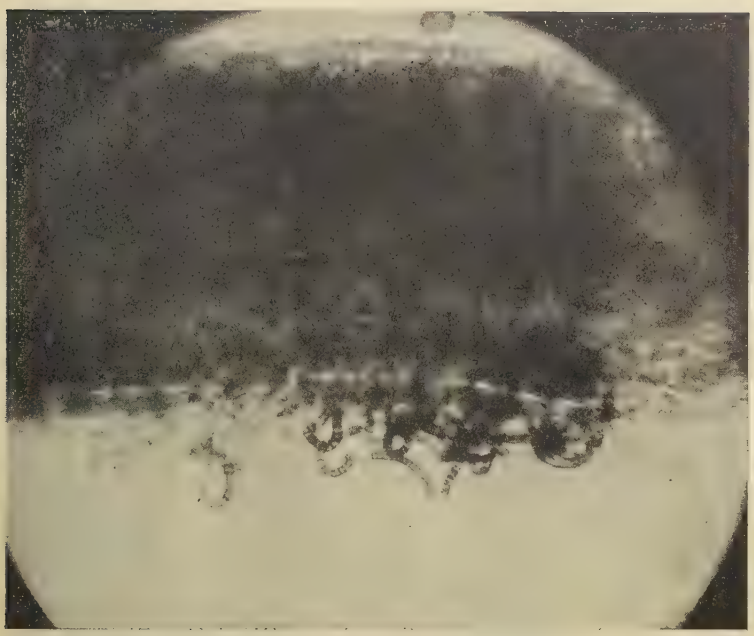


Fig. 3. – Sezione di una foglia parassitizzata. 220 ×.

La zona centrale delle chiazze assume poi il colore bruno-olivaceo-fuligineo e l'aspetto vellutato sopra descritti per l'abbondantissima fruttificazione conidica. Dalle ife vegetative, ialine o clorine, infatti, si dipartono ad angolo retto verso il basso numerosissimi rametti poco differenziati, lunghi ordinariamente dai 10 ai 30 μ, clavati, continui, brunneoli alla loro estremità, spesso con 2-3 superfici di attacco delle catenule * sotto forma di spallette o denticoli (fig. 5).

Le catenule raccolte sulla matrice presentano la forma a manico d'ombrello caratteristica della specie, colore bruno, una lunghezza ** mediamente oscillante fra i 60 e i 90 μ (eccezionalmente essa raggiunge

---

* Chiamo catenule le serie di cellule propagative, piegate ad uncino, già interpretate come catenelle di conidi unicellulari, e qui sotto considerate come conidi feofragmii.

** Misurata sempre fra il punto d'inserzione della catenula e la sommità della curvatura a pastorale (vedi figura 5). Ho adottato questo sistema per misurare le catenule per ovviare alle difficoltà che presenta la misurazione della lunghezza della catenula rettificata. Forse al differente sistema di misura è dovuta la minor lunghezza da me registrata per le catenule in confronto di quella riportata dal Saccardo (3, vol. IV, p. 267: 130-150 μ).

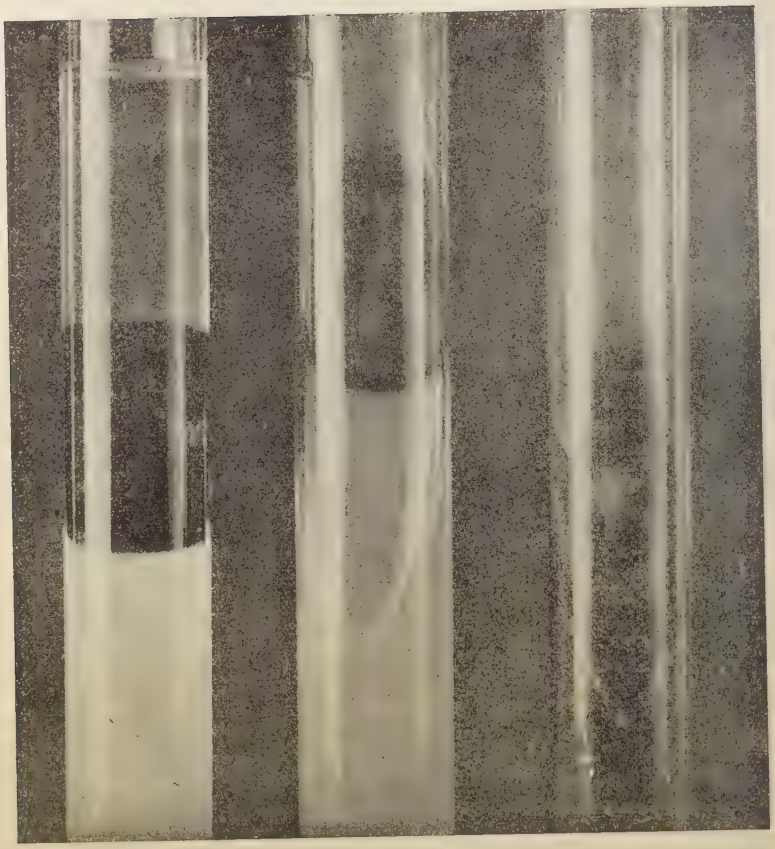
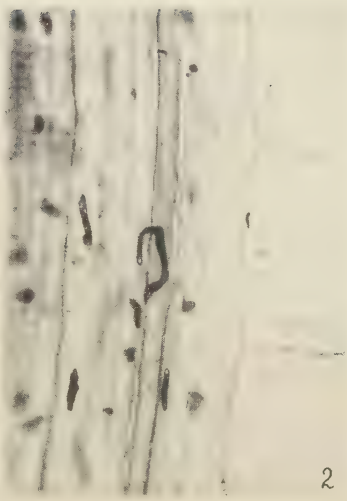
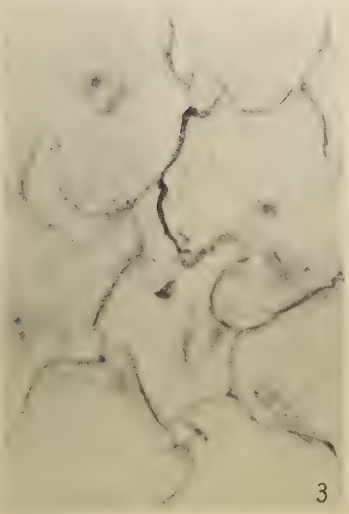


Fig. 4. – Colture di *G. celtidis* su agar di Czapek. Da sinistra a destra: coltura di 51 g. (provetta piena di olio di vaselina), coltura di 51 g., coltura di 113 g. coll'agar di color porporino scuro.

i 120 μ) ed una larghezza massima sui 6-8 μ. Sono costituite da una successione lineare di 15-30 cellule, con frequenti costrizioni ai setti trasversali, che creano una specie di gerarchia fra i setti stessi: setti di 1° ordine, con costrizione, e setti di 2° ordine, senza costrizione. Generalmente un setto di 1° ordine è alternato ad uno di 2°, in modo da dividere la successione di cellule in tante coppie distinte, fatto che si spiega collo svolgimento del processo di settazione della catenula osservato nelle colture in goccia pendente (vedi sotto). Frequente è il caso che una catenula si risolva in 2 o 3 pezzi, perchè due cellule adiacenti si





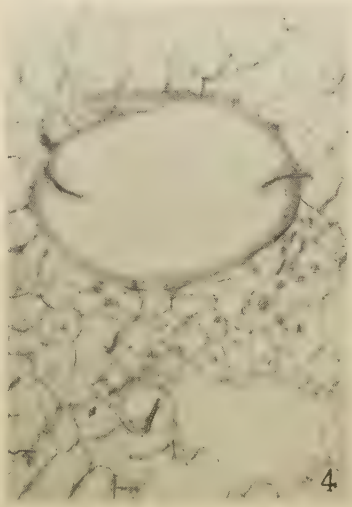
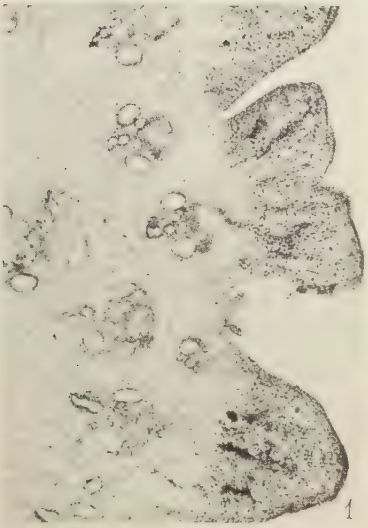


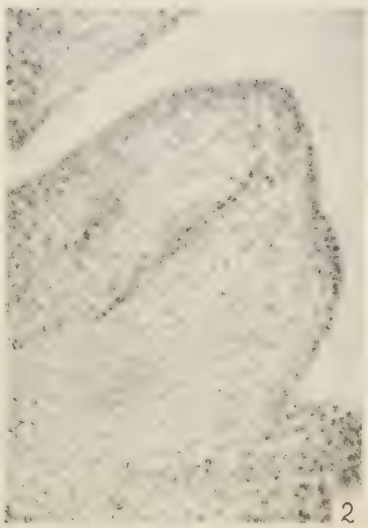
FIG. 1. – Sezione longitudinale del fusto di mais, 35 giorni dopo l'infezione, con ife emateinofile nel parenchima legnoso (350 ×).

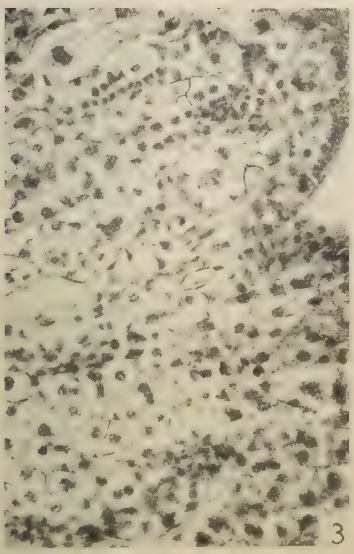
FIG. 2. – Altra sezione longitudinale del fusto di mais 35 giorni dopo l'infezione, con ife emateinofile nel parenchima legnoso (350 ×).

FIG. 3. – Sezione trasversale del fusto, 45 giorni dopo l'infezione. Parenchima fondamentale con ife intercellulari emateinofile (350 ×).

FIG. 4. – Sezione trasversale del fusto, 55 giorni dopo l'infezione. Tessuto normale con vasi legnosi. Nel vaso più grande si osservano ife emateinofile avvolte da una guaina, nel vaso più piccolo un'altra ifa emateinofila (350 ×).







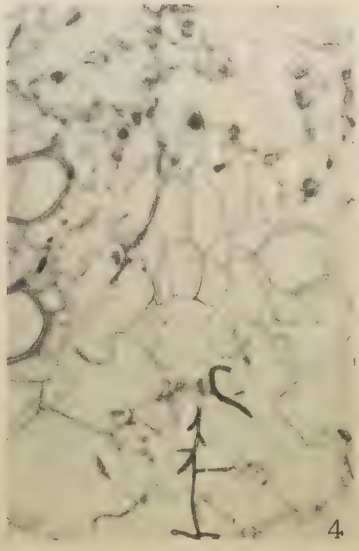
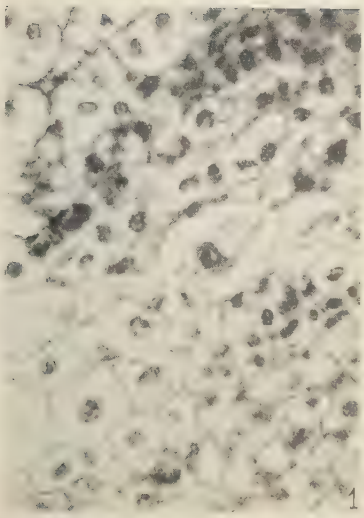


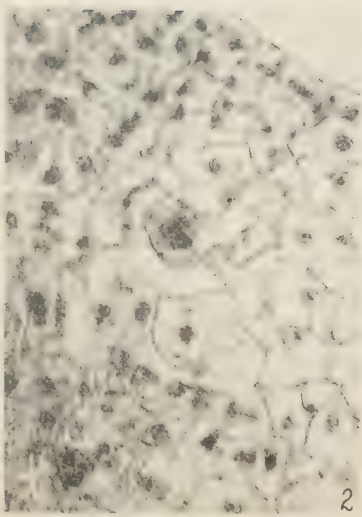
Fig. 1. – Sezione trasversale del fusto: tessuto normale e piccoli tumori; questi ultimi con i fasci fibrovascolari disposti perpendicolarmente a quelli della zona normale (350×).

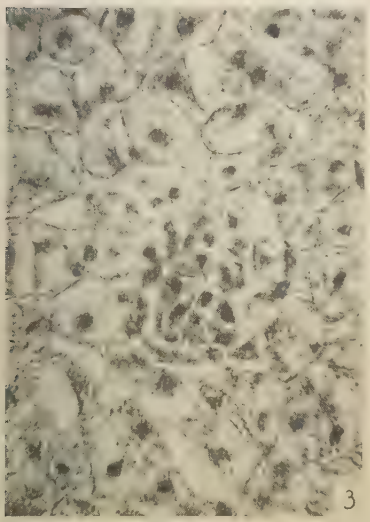
Fig. 2. – Particolare di un giovane tumore privo di micelio (100 ×).

Fig. 3. – Particolare del tumore precedente (200 ×).

Fig. 4. – Sezione trasversale del fusto, 55 giorni dopo l'infezione: tessuto normale con ife emateinofile inter– e intracellulari nel parenchima fondamentale (350 ×).







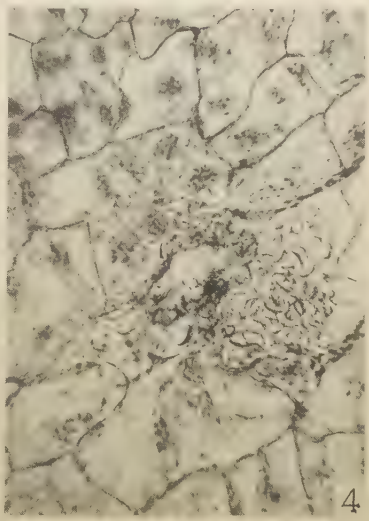
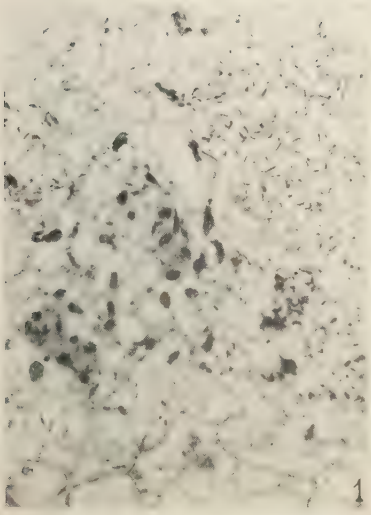


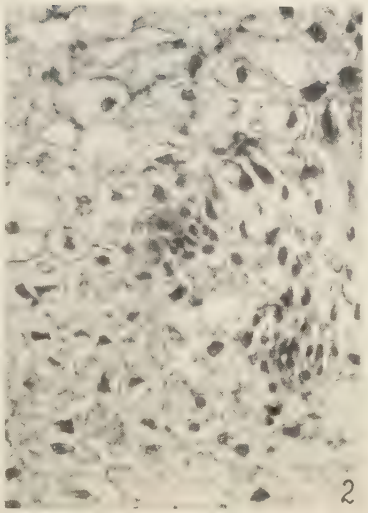
FIG. 1. – Sezione di un giovane tumore privo di micelio: al centro, una cellula ipertrofica con grosso nucleo (350 ×).

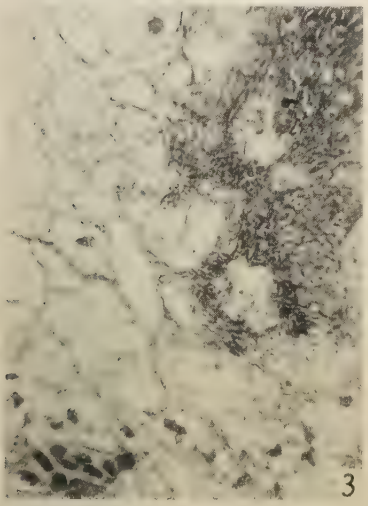
FIG. 2. – Sezione di un giovane tumore privo di micelio: al centro, una cellula ipertrofica con grosso nucleo e tre grossi nucleoli (350 ×).

FIG. 3. – Sezione di un giovane tumore con un ammasso di neoproduzione privo di micelio (350 ×).

FIG. 4. – Sezione di un tumore con lacune occupate da un ammasso di micelio eosinofilo (350 ×).







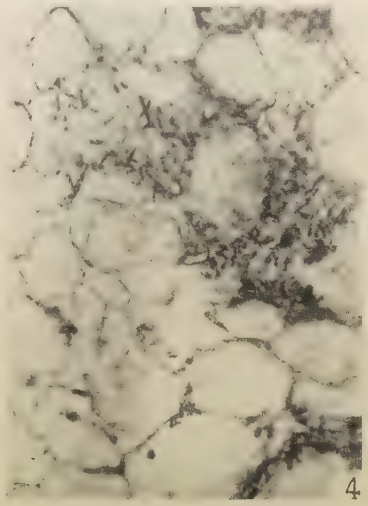
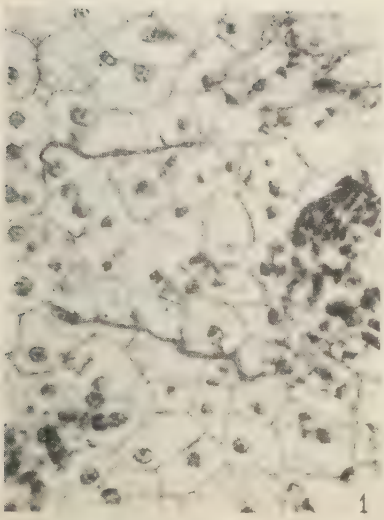


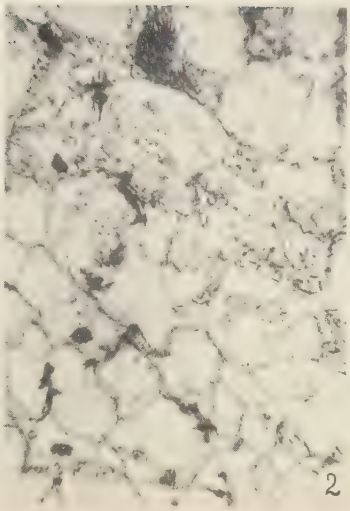
FIG. 1. – Sezione trasversale dell'asse della spiga femminile, 55 giorni dopo l'infezione, con lacune occupate da un ammasso di micelio eosinofilo (350 ×).

FIG. 2. – Sezione trasversale dell'asse della spiga femminile, 55 giorni dopo l'infezione in un punto sano (350 ×).

FIG. 3. – Sezione trasversale dell'asse della spiga femminile, 55 giorni dopo l'infezione, con lacune occupate da un ammasso di micelio eosinofilo; alla periferia, ife isolate ematoeinofile (350 ×).

FIG. 4. – Altro particolare della sezione precedente (350 ×).





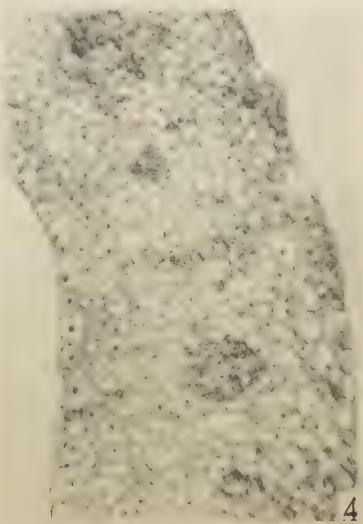
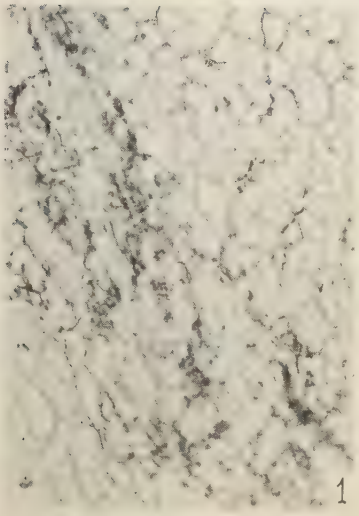


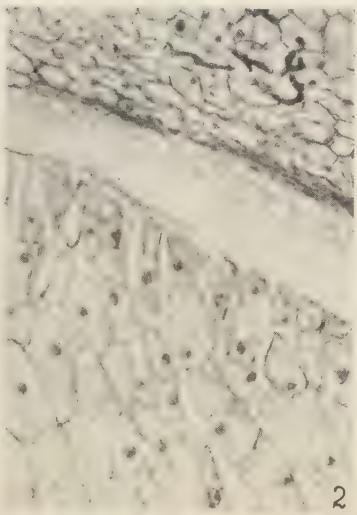
FIG. 1. – Particolare del tessuto iperplastico della foglia con micelio e con un ammasso di neoproduzione (350 ×).

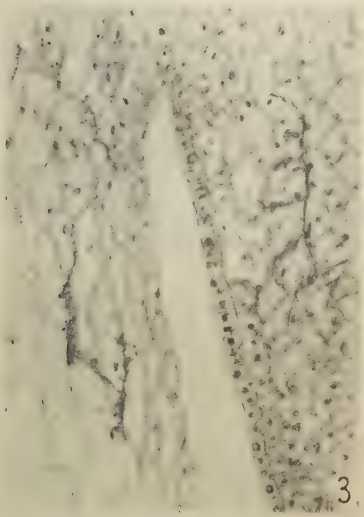
FIG. 2. – Asse della spiga femminile con lacune occupate da un ammasso di micelio eosinofilo; alla periferia, ife isolate emateinofile (350 ×).

FIG. 3. – Sezione trasversale di foglia con tessuto normale (in basso) e tessuto iperplastico (in alto) (200 ×).

FIG. 4. – Sezione trasversale di giovane tumore di foglia con fasci fibrovascolari e ammassi di neoproduzione (200 ×).







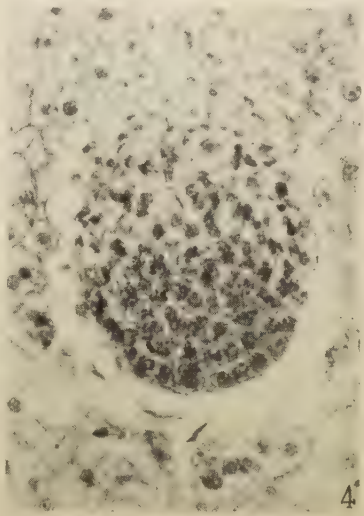


FIG. 1. – Particolare della parete dell'ovario con abbondante micelio emateinofilo (350 ×).

FIG. 2. – Particolare della parete dell'ovario con ife emateinofile (in alto) e dell'endosperma privo di micelio (in basso) (350 ×).

FIG. 3. – Particolare della parete dell'ovario (a destra) e della nocella (a sinistra) con ife emateinofile (350 ×).

FIG. 4. – Sezione di un giovane embrione privo di micelio in una cariosside lesa (350×).

gonfiano e di conseguenza le costrizioni del setto interposto si approfondiscono fino a facilitare il distacco delle due parti, non appena queste sono soggette ad una piccola scossa. Alcune fruttificazioni presentano un setto longitudinale e qualche setto obbliquo (fig. 5; tav. II, figg. B e C).

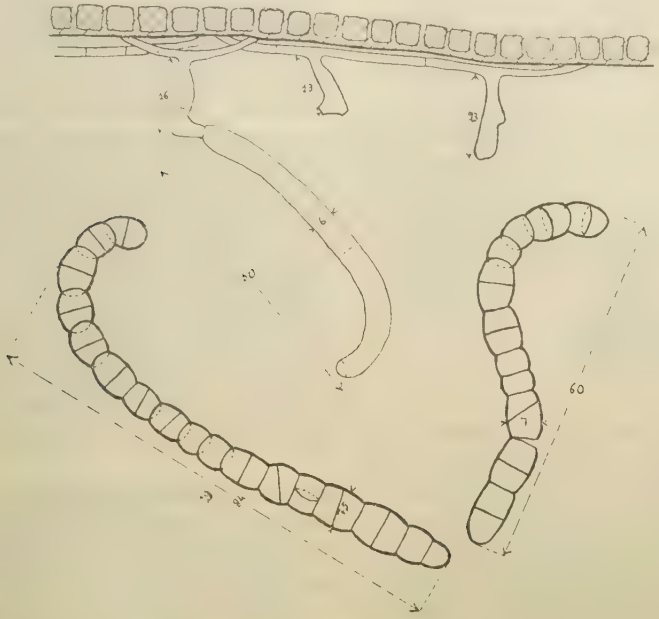


Fig. 5. – Conidiofori e catenule di *G. celtidis* sulla matrice naturale (dal vero).

È facile constatare, anche con sezioni fatte a mano, come il fungo penetri nel lembo. Rametti bruni, alquanto differenziati, si distaccano dal micelio superficiale, e s'insinuano — riunendosi spesso in fascetti di 3-4 — attraverso l'epidermide in direzione perpendicolare ad essa. In molti casi è facile riconoscere che la penetrazione avviene attraverso ad uno stoma, ma in altri ciò non è possibile, per cui suppongo che le ife del fungo possano anche perforare la cuticola ed insinuarsi fra 2 cellule epidermiche contigue* (tav. I, figg. A-E).

Giunta al di sotto dell'epidermide o nella camera ipostomatica, la singola ifa termina generalmente in un ingrossamento, il fascetto di ife in un minutissimo nodulo di micelio bruno. Da entrambe le formazioni

* Gli stomi nelle foglie adulte di bagolaro sono difficilmente riconoscibili.

si distaccano corti rametti brunneoli che si insinuano fra epidermide e spugnoso oppure nel cuore dello spugnoso e si perdono di vista dopo poche decine di μ di percorso (tav. I, fig. A). Solo una ricerca minuziosa su sezioni a mano colorate al blu al lattofenolo e su sezioni imparaffinate colorate col Giemsa o colla safranina-ematossilina Delafield ha permesso di riconoscere un ricco micelio intercellulare ialino, sottile, irregolare, che invade tutto lo spugnoso (tav. I, figg. C-E) e termina con ife cieche che s'insinuano fra le cellule del palizzata come i denti di un pettine. All'azione di queste ife è da attribuirsi la colorazione cloritica, più raramente bruna, che compare sulla pagina superiore delle foglie in corrispondenza delle areole ammuffite. Non ho potuto discernere austorii.

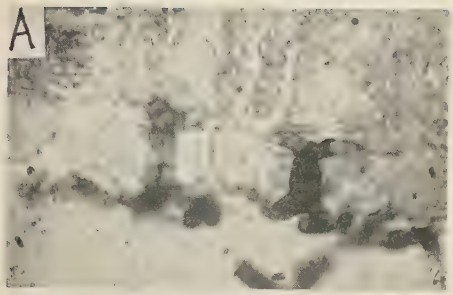
Il parassita in coltura

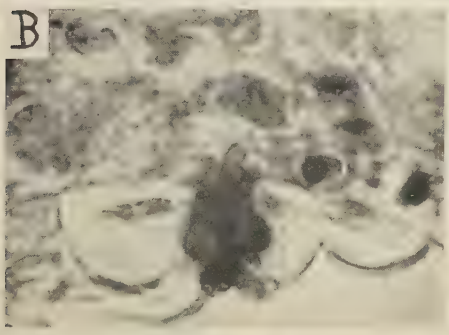
L'isolamento del micete coi metodi ordinari non riesce, perchè la sua vegetazione viene immediatamente sopraffatta dai saprofiti, le cui spore sono commiste con quelle del *Gyroceras*. L'isolamento risulta invece molto facile ricorrendo alla tecnica monosporica (metodo seguito: Keitt-Ezekiel (1).

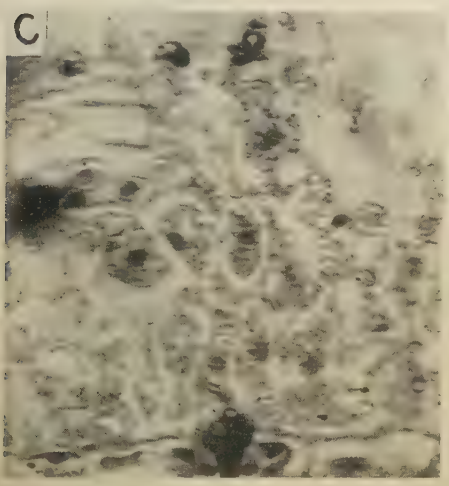
Si ottengono così colonie di sviluppo molto lento e prolungato, che dopo un mese e mezzo a 20°-25° raggiungono il loro sviluppo massimo di una trentina di millimetri di diametro. Tali colonie hanno superficie vellutata, talora plicata e colore bruno-olivaceo più o meno scuro. La superficie è spesso parzialmente mascherata da un micelio aereo biancastro o roseo (fig. 4). In vecchie colture su agar-patate glucosato sono comparsi corpiccioli isodiametrici nerastri, di un diametro intorno ai 200 μ, forse abbozzi della fruttificazione perfetta.

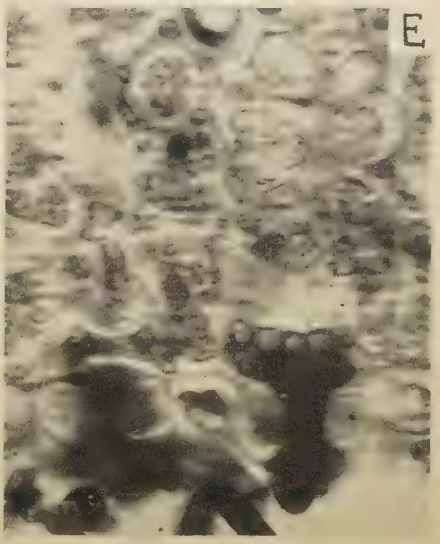
Fra i vari substrati usati (agar di Czapek, agar-patate glucosato, agar-malto, agar-avena, agar-foglie di bagolaro glucosato), il migliore si è dimostrato l'agar (o liquido) di Czapek, sia per la rapidità della vegetazione, sia per l'abbondanza della fruttificazione. In tale substrato il fungo si è sviluppato ed ha fruttificato regolarmente attraverso a parecchi trapianti successivi, senza apparente degenerazione. In esso il *Gyroceras* diffonde un pigmento porporino, che nelle colture vecchie diventa molto cupo (fig. 4); lo stesso pigmento viene prodotto, in molto minor copia, in altri substrati.

Avendo ottenuto il micete in coltura pura, mi è stato facile analizzarne lo sviluppo in colture in goccia pendente. Le catenule hanno già iniziato la germinazione dopo 20 ore di incubazione ad una temperatura









A. – Ife di *G. celtidis* che penetrano nel lembo di una foglia di *Celtis australis* verosimilmente passando fra le cellule dell'epidermide. Materiale imparaffinato, colorazione del Giemsa. 410 ×.

B. – Ifa di *G. celtidis* che penetra nel lembo di una foglia di *C. australis* attraverso uno stoma. Materiale imparaffinato; colorazione del Giemsa. 950 ×.

C. – Fascetto di ife di *G. celtidis* che penetra nel lembo di una foglia di *C. australis* attraverso uno stoma. Micelio interno intercellulare. Materiale imparaffinato; colorazione del Giemsa. 740 ×.

D. – Come C. 1230 ×.

E. – Fascetto di ife di *G. celtidis* che penetra nel lembo di una foglia di *C. australis* probabilmente passando fra le cellule dell'epidermide. Nodulo di micelio sottoepidermico. Micelio interno intercellulare. Materiale imparaffinato; colorazione del Giemsa. 1220 ×.

Fig. 6 A. – Abbozzi di conidiofori di *G. celtidis* in una coltura in goccia pendente (dal vero).

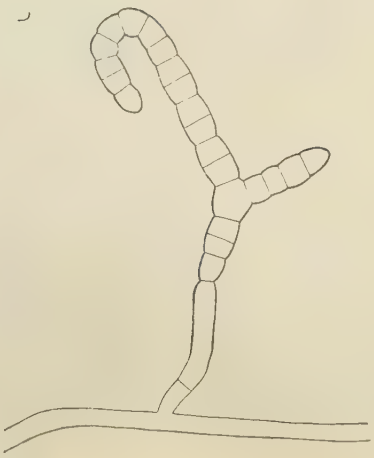


Fig. 6 B. – Catenula ramificata di *G. celtidis* in una coltura in goccia pendente (dal vero).

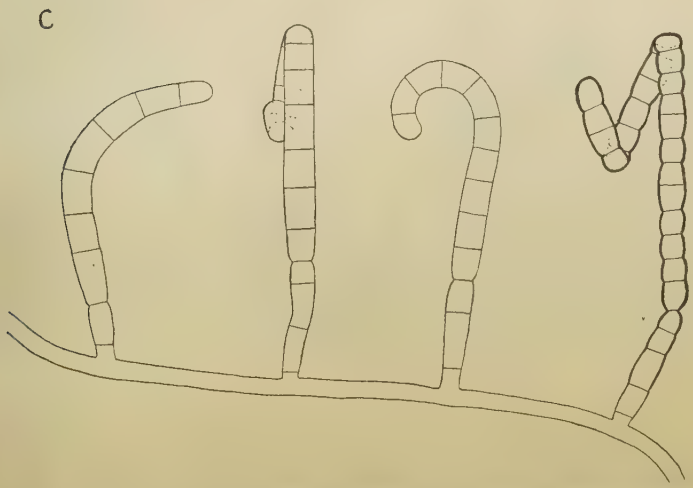


Fig. 6 C. – Vari stadî evolutivi di catenule di *G. celtidis* in una coltura in goccia pendente (dal vero).

intorno ai 25°. Le loro cellule si gonfiano, e molte di esse — talora quasi tutte — emettono ciascuna un promicelio che si allunga lentamente. Le serie di cellule non mostrano una particolare tendenza a disarticolarsi nei singoli loro elementi (tav. II, fig. B). Si ha così, dopo 3-4 giorni, un intreccio di ife ialine, settate, di calibro uniforme, di contenuto omogeneo, di circa 3 μ di diametro. I filamenti più vecchi, ripieni di gocciole oleose, possono raggiungere i 6 μ e sono brunneoli.

Dopo qualche giorno dalle ife vegetative si distaccano lateralmente, in direzione perpendicolare, dei corti rami di diametro maggiore, contenuto ialino e granuloso, i quali dimostrano una spiccata tendenza ad incurvarsi per assumere la forma di un manico d'ombrello. Questi abbozzi di catenule possono essere anche posti all'estremità di un'ifa vegetativa. Indi la porzione distale si separa da quella prossimale a mezzo di un setto (fig. 6 A). La porzione distale, più lunga, successivamente si suddivide con altri setti trasversi, che divengono sempre più numerosi, intercalandosi a quelli più vecchi. Contemporaneamente i suoi articoli tendono a rigonfiarsi — onde leggera costrizione ai setti — e ad imbrunire (fig. 6 C). Anche in vitro spesso si possono distinguere setti ed articoli di 1° ordine e setti ed articoli di 2° ordine, come si è detto per le catenule prodotte sulla matrice naturale (fig. 6, B e C).

Contemporaneamente la porzione prossimale del primordio di catenula si evolve in conidioforo, acquistando una sfumatura bruna, e pochissimi setti; si presenta sempre meno differenziata che sulla matrice naturale (fig. 6, B e C). Non sono rari i conidiofori ramificati e quelli portanti 2-3 catenule (tav. II, fig. D); verosimilmente questi ultimi derivano, come quelli comunemente osservati in natura, da primordi ramificati, nei quali i setti di separazione si sono formati all'inserzione dei rami secondari sul principale, in quanto tutto fa pensare che l'accrescimento del conidioforo sia nettamente definito dalla produzione della catenula. La sporadica esistenza, in coltura, di catenule ramificate (fig. 6 B), è, in certo qual modo, una conferma indiretta del fatto che la ramificazione nell'abbozzo precede la settazione, e che quindi l'accrescimento del conidioforo è definito.

Per quanto si possano osservare catenule attaccate al conidioforo per una larga base [cfr. la fig. di (4), tav. n. 795], generalmente alla base della catenula si ha una costrizione marcata (tav. II, fig. D), che spesso porta al distacco spontaneo della catenula stessa. Accade spesso che la catenula si disarticoli solo in parte dal conidioforo e per la superficie d'attacco rimasta libera emetta un promicelio.

A. – Catenule di *G. celtidis* sulla pagina inferiore di una foglia di *C. australis*. 290 ×.

B. – Catenule di *G. celtidis* germinanti. 350 ×.

C. – Catenule di *G. celtidis* raccolte dalla matrice naturale. 350 ×.

D. – Conidioforo di *G. celtidis* provvisto di due catenule in una coltura in goccia pendente. 280 ×.

Solo le catenule prodotte nell'aria imbruniscono; quelle immerse nel liquido rimangono ialine o acquistano solo una leggera sfumatura bruna. Tuttavia anche queste possono disarticolarsi e germinare.

Non ho avuto mai occasione di osservare in natura o in coltura i picnidi descritti dal Killian (2).

Critica

Da quanto è stato sopra esposto mi sembra che scaturisca chiaramente che le catenule del *G. celtidis* non sono da interpretarsi come serie di conidi unicellulari, ma bensì come conidi feofragmii esse stesse, conidi che per la loro forma e struttura sono di particolare fragilità e sono quindi soggetti facilmente a disarticolarsi in più frammenti. Il Saccardo ha prospettato una simile possibilità sin dal 1886 (3: vol. IV, p. 257).

Propongo quindi, per la specie in discussione, la seguente diagnosi, emendata e dettagliata coll'aggiunta dei caratteri che le mie osservazioni hanno messo in rilievo:

«*Gyroceras celtidis* (Biv). Mont. et Ces., emendavit Mezzetti.

Areolis hypophyllis rotundatis, 1-2 cm. diam., confluentibus, olivaceo-fuscis velutinis, e conidiophoris et conidiis efformatis; maculis epiphyllis chlorinis aut griseo-brunneis, indeterminatis. Hyphis externis hypophyllis hyalinis vel pallidis, filiformibus, septatis ramosis, 2-4 μ diam.; hyphis internis hyalinis irregularibus, inter cellulas repentibus; hyphis, quae mycelium superficiale cum interno nectunt, singulis vel synnematicis, brunneis, per stomata et trans epidermidem meantibus. Conidiophoris erectis, brevibus, (10-30 μ), clavatis, continuis, sursum brunneolis, plerumque 2-3 cicatricibus conidiorum praeditis, in mycelio externo sparsis. Conidiis cylindraceis vel fusiformibus, e 15-30 cellulis in serie lineari efformatis, ad septa leniter constrictis, raris septis obliquis vel longitudinalibus, fragilissimis, apice spiraliter involutis vel uncis vel falcatis, 60-120 (inter imum et summum conidium) × 6-8 μ, fuscis.

Habitat: in pagina inferiore foliorum exmplarium *Celtidis australis* adhuc viventium in Italia, Helvetia, Austria, Mauretania; *C. sinensis* in Japonia; et *Sponiae sinensis* in Lusitania».

In conseguenza appare ovvio un accostamento del *G. celtidis* ad alcuni *Clasterosporium* che hanno in comune con esso il tipo dei conidiofori (poco differenziati, corti, ad accrescimento definito, brunneoli, isolati) e il tipo dei conidii (cilindrici o fusiformi, bruni, formati da una serie semplice e lunga di cellule corte, con costrizioni ai setti e con

curvature più o meno marcate), quali sono ad es. *Cl. caricinum*, il prototipo del genere (*7*, pp. 149-50), *Cl. eruca*, *Cl. hirudo*, *Cl. hormiscioides*, *Cl. glomerulosum*, *Cl. vermiculatum*, *Cl. curvatum* (3: vol. IV, pp. 382-394), *Cl. densum* (6), *Cl. diffusum* (3: vol. XXV, p. 895). Per alcune delle sopra elencate specie la somiglianza si estende anche ai caratteri ecologici: infatti, *Cl. curvatum*, *Cl. caricinum* e *Cl. diffusum* sono foliicoli; *Cl. glomerulosum* e *Cl. densum* sono ipofilli.

Minore è invece l'affinità con gli *Helminthosporium*, poichè essi hanno generalmente conidiofori gregari riuniti in un ciuffetto o impiantati su di uno stroma, ad accrescimento indefinito, piuttosto lunghi, e conidi poco o punto curvati.

Una certa affinità per i loro rapporti colla matrice mostrano alcune *Cercospora* ipofille, provviste di micelio superficiale ed interno [per es.: *C. hybiscina*, *C. pipturi*, *C. rigospora*, *C. cayaponiae* (5)], ma ne sono nettamente distinte dai caratteri morfologici dei loro conidiofori e dei loro conidi. Da notare ancora la somiglianza in coltura pura delle colonie di *G. celtidis* con quelle di molte *Cercospora*.

Malgrado i molti e stretti punti di contatto sopra rilevati fra il *G. celtidis* ed alcuni *Clasterosporium*, mi sembra prematuro trasferire il micete in discussione in quest'ultimo genere. A ciò potrà procedersi solo se (quando il gruppo dei *Clasterosporium* sarà stato sottoposto ad una radicale revisione, che ne allontani le specie aberranti, stabilisca chiaramente i suoi confini verso i generi circonvicini e particolarmente verso il gen. *Helminthosporium*, e ne precisi i caratteri) i caratteri del gruppo o di uno dei gruppi risultanti saranno tali da giustificare l'ammissione in esso del parassita del bagolaro.

RIASSUNTO

È descritto il *Gyroceras celtidis* (Biv.) Mont. et Ces. nel suo *habitat* naturale (foglie di *Celtis australis*) ed in coltura pura. Le caratteristiche catenule a forma di manico d'ombrello sono interpretate come conidi multisettati.

Si propone perciò un emendamento alla diagnosi della specie e si rivelano affinità morfologiche ed ecologiche con alcune specie di Ifali feofragmii, particolarmente con alcuni *Clasterosporium*.

SUMMARY

REMARKS ON THE MORPHOLOGY AND TAXONOMY OF *GYROCERAS CELTIDIS* (BIV.) MONT. AND CES.

by Alberto Mezzetti

Gyroceras celtidis in its natural habitat (leaves of *Celtis australis*) and in pure culture is described. The peculiar hooked chains of cells of the fungus are interpreted as multiseptate conidia. An amendment of the species diagnosis is therefore proposed. Morphological and ecological affinities with some species of Hyphales phaeophragmia (particularly *Clasterosporium*) are pointed out.

BIBLIOGRAFIA

(1) Ezekiel, W. Modified procedure with the Keitt-single-spore method. *Phytopath.*, Lancaster, Pa., 1930, XX, 582-586.

(2) Killian, C. Le *Gyroceras celtidis* Mont. et Ces. parasite du *Celtis australis* L. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord,* 1925, XVI, 271-281. Riass. in *Rev. Appl. Myc.,* Kew, Surrey, 1926, V, 268.

(3) Saccardo, P. A. Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum. XXV voll. Patavii, Tipis Seminarii, et Abellini, Tipis Pergola, 1882-1931.

(4) Saccardo, P. A. Fungi italici autographice delineati. Patavii, P. Fracanzani, 1877-1886.

(5) Solheim, W. G., and Stevens, F. L. *Cercospora* studies. II. Some tropical Cercosporae. *Mycologia,* Lancaster, Pa., 1931, XXIII, 365-405.

(6) Sydow, H., und P. Beschreibungen neuer südafricanischer Pilze. II. *Ann. Myc.,* Berlin 1912, X, 437-444.

(7) Wiltshire, S. P. The foundation species of *Alternaria* and *Macrosporium*. *Trans. Brit. Myc. Soc.,* Cambridge, 1933, XVIII, 135-160, 3 pls.

Ricevuto il 24 marzo 1950.

OSSERVATORIO FITOPATOLOGICO PER LA PUGLIA E LA LUCANIA
(Direttore: Vincenzo Carrante)
BARI

Augusto de Robertis

LA LOTTA ANTIACRIDICA

RILIEVI SPERIMENTALI SULL'USO DELL'ESACLOROCICLOESANO E CONFRONTO TECNICO-ECONOMICO DI TRE DIVERSI METODI DI IMPIEGO

Premessa

Durante la campagna antiacridica 1949 fui incaricato dalla Direzione dell'Osservatorio fitopatologico di Bari di effettuare alcune osservazioni biologiche sulle cavallette (*Dociostaurus maroccanus*, Thumb.), nonchè di accertare i limiti d'impiego della miscela esaclorocicloesano – terra, miscela normalmente usata dal 1948 per la lotta antiacridica.

All'uopo raggiunsi uno dei centri di lotta più attrezzati, cioè quello di Manfredonia, ove mi resi conto dell'opportunità di una più organica sperimentazione allargando l'indagine ad altri miscugli antiacridici, oltre quello terra–ECE, stabilendone pure l'indagine economica comparativa.

Informai perciò di questa mia decisione il direttore dell'Osservatorio, prof. Vincenzo Carrante, nonchè il dott. G. M. Martelli, i quali mi sollecitarono in questa impresa, confermandomi l'importanza della medesima *.

Con questo lavoro ritengo di colmare una lacuna nell'attuale bibliografia sulle indagini sperimentali finora attuate in pieno campo, per la lotta antiacridica, in relazione ai metodi attualmente adoperati (ECE–terra, ECE–crusca), inserendovi una sperimentazione su

* Sentitamente ringrazio per i consigli datimi il prof. V. Carrante; sono grato al dott. G. Vitrani, dell'Ispettorato provinciale dell'Agricoltura di Foggia, per la larga ospitalità concessami nello svolgimento della sperimentazione e per le accurate informazioni fornitemi per l'indagine economica sulla mano d'opera, impiegata nella lotta antiacridica a Manfredonia.

di un nuovo metodo (ECE-bentonite), che al lume degli ampi esperimenti eseguiti in pieno campo, spero sarà degno di attenzione anche per la pratica condotta delle prossime campagne antiacridiche.

Ritengo utile premettere che il presente lavoro è stato condensato nel minor numero possibile di pagine e tabelle. Inoltre, sempre rispettando il rigore scientifico, si è cercato di imprimere un carattere pratico all'eposizione degli esperimenti effettuati, tralasciando la descrizione dell'approntamento delle prove e della connessa incessante sorveglianza e laboriosa esecuzione di esse al fine della sperimentazione tecnica ed economica, evitando così pedisseque e prolisse esposizioni che, d'altro canto, non porterebbero alcun contributo al valore sia sperimentale che pratico della presente relazione. A questa invece si è ritenuto utile, dal punto di vista dottrinario e metodico, aggiungere la discussione dei risultati ottenuti, comparativamente considerati nei diversi metodi, nonchè l'apprezzamento economico dei medesimi.

Si noti che le osservazioni sulla mortalità delle cavallette sono riunite sotto forma di tabelle, ove i dati vengono forniti per i primi quattro giorni successivi all'avvenuto trattamento antiacridico, perchè nel corso della sperimentazione è stato riconosciuto che, dopo tale lasso di tempo, più non si verificano apprezzabili variazioni degli indici di mortalità. È intuitivo che tali indici hanno valore informativo, perchè solo approssimati: infatti non era praticamente possibile numerare la sterminata quantità delle cavallette di un'orda, per di più in continua marcia. Ad ogni modo, dati pratici per la valutazione sono stati desunti accuratamente, controllando la superficie (in mq.) delle orde prima e dopo il trattamento (le orde decimate dall'ECE si ricostituiscono in ordine di marcia con gli insetti salvatisi), avendo anche riguardo, per la stima, alla relativa fittezza degli insetti.

È chiaro pure che per mortalità 100 % si intende la pratica disinfestazione agraria degli appezzamenti e non quella entomologica.

Piano sperimentale

Allo scopo di accertare i limiti di impiego delle miscele antiacridiche sono stati condotti ripetuti esperimenti in pieno campo durante la campagna 1949, con prove svolte dal 29 aprile (cavallette della 2ª e della 3ª età) al 21 maggio (cavallette della 5ª età ed adulte), in agro di Manfredonia (Foggia), nonchè dal 6 all'11 giugno (cavallette adulte)

in territorio di Manduria (Taranto), ove esistevano vaste orde di *Dociostaurus*.

Quali antiacridici sono stati usati 3 tipi di miscele a base di esaclorocicloesano (ECE tipo antiacridico al 20 % di isomeri): con terra, con bentonite, con crusca; sperimentando per ogni miscela diverse concentrazioni di principio attivo.

Ai fini pratici della lotta si è tenuto presente che, pur variando entro normali limiti alcuni fattori ambientali (insolazione, temperatura, grado igrometrico, vento, vegetazione), la miscela dovrebbe restare di sufficiente efficacia antiacridica.

Tutte le prove indistintamente sono state effettuate in pieno campo, ritenendole, in questo caso, assai più attendibili delle prove di laboratorio. Infatti, benchè gli esperimenti condotti contro insetti posti in osservazione entro recinti o sotto gabbia, siano comodamente e sicuramente controllabili, tuttavia in limitati casi tale sistema può dare precise indicazioni per la metodologia delle lotte in pieno campo. Ciò vale soprattutto per le cavallette, le quali, assai mobili e addirittura in continua migrazione, non permettono assolutamente di considerare la campagna di lotta alla stessa stregua degli esperimenti, di laboratorio, o in ambiente comunque confinato.

Non è possibile, infatti, trarre precise conclusioni da simili prove in piccolo, le cui condizioni ambientali, come è facile comprendere, sono assai diverse da quelle nelle quali si vengono a trovare gli insetti sui liberi pascoli, dove, a parte ogni altra considerazione, si fermano soltanto la notte e durante i giorni di intemperie; in tali prove, effettuate in ambienti limitati, gli insetti, costretti innaturalmente in breve spazio, rimangono a continuo e forzato contatto con i mezzi insetticidi apprestati.

È ovvio che da tali considerazioni trae origine il sistema di sperimentazione adottato: indagini in pieno campo su larga scala e in condizioni naturali.

Osservazioni generali. – Note biologiche e tossicologiche

In ogni esperimento con sostanze tossiche, escludendo le influenze ambientali, si sa che, per un determinato soggetto, la soglia letale viene raggiunta qualora siano rispettati due fattori base: concentrazione in principio attivo e quantità; perciò nella sperimentazione antiacridica condotta, si è tenuto presente tale presupposto con la considerazione che le miscele dei prodotti a

base di ECE si mostrano efficaci, in determinate percentuali di principio attivo, solamente quando concorre almeno il fattore importantissimo quantità; cioè: determinate concentrazioni di ECE nelle miscele di spargimento saranno efficaci qualora queste ultime vengano impiegate in determinate quantità nei confronti delle superfici da trattare (area delle orde del *Dociostaurus*).

Altro fattore di relativa importanza per un tossico per contatto, quale l'ECE, sarà lo stato di suddivisione in cui esso si trova nel miscuglio (sottigliezza rispettiva del prodotto ECE e del mezzo di dispersione o materiale inerte).

In linguaggio matematico ciò viene espresso con l'equazione seguente: l'efficacia della miscela antiacridica è direttamente proporzionale alla concentrazione in principio attivo ed alla quantità della miscela medesima, mentre è inversamente proporzionale alla superficie di spargimento ed al volume (grandezza) delle singole particelle costituenti il miscuglio.

Indicando con E l'efficacia, con C la concentrazione in antiacridico della miscela, con Q la quantità, con S. la superficie e con V il volume delle singole particelle costituenti il miscuglio, si ha:

$$E = \frac{C \cdot Q}{S \cdot V} .$$

Infatti la validità di tale legge è rilevabile con la disamina dei fattori influenzanti l'efficacia delle miscele (termini dell'equazione).

Fattore C. – Se in un esperimento su di un qualsiasi soggetto, si variano le diluizioni percentuali di in determinato principio attivo, lasciando invariati tutti gli altri fattori, cioè si procede a sperimentare con varie concentrazioni, si constaterà che la tossicità delle miscele aumenta o diminuisce con l'aumentare o diminuire della concentrazione in principio attivo nella miscela; ossia: l'efficacia (E) della miscela è direttamente proporzionale alla concentrazione (C) del tossico nella miscela medesima.

Fattore Q. – Si prenda un qualsiasi materiale inerte (per esempio bentonite); si provveda a impartirgli un colore (per es. rosso) e si effettui un omogeneo miscuglio con il 10 % di un prodotto ECE

(per comodità di dimostrazione si può immaginare che la sottigliezza del prodotto ECE e quella della bentonite siano eguali). Di tale miscuglio si prendano 10 gr. e si spargano uniformemente su di un foglio con area uguale ad 1 mq.; in seguito con 20 gr. del medesimo miscuglio si copra un altro foglio di carta della stessa area.

Se i 2 fogli di carta vengono esaminati sotto un microscopio, risulterà che in una determinata frazione di superficie del primo foglio di carta (con 10 gr. di miscuglio) saranno visibili, su 100 granuli, 10 granuli di colore rosso e 90 granuli di colore bianco (cioè 10 granuli di prodotto ECE e 90 granuli di Bentonite), sul secondo foglio di carta (con 20 gr. di miscuglio), invece, sempre in quella determinata frazione di superficie, saranno visibili, su 100 granuli, ben 20 di colore rosso e 80 di colore bianco (cioè 20 granuli di prodotto ECE e 80 granuli di bentonite).

Se questa esperienza viene idealmente o praticamente riportata a 2 cavallette (la cavalletta in questo caso costituirà l'unità di superficie), si constaterà che miscugli, ad eguale concentrazione in ECE, sono più o meno efficaci, in rapporto diretto alla quantità di miscuglio sparso sulle cavallette: poichè, evidentemente, la cavalletta che avrà ricevuto sui tegumenti un numero doppio, rispetto alla compagna, di particelle di ECE (in questo caso consideriamo l'esaclorocicloesano un tossico per contatto) sarà preda di una intossicazione proporzionatamente più grave: cioè l'efficacia della miscela, ad una determinata concentrazione, è direttamente proporzionale alla quantità di miscela sparsa (e ciò fino a raggiungere il massimo della tossicità).

Fattore S. – È chiaro che se invariati si lasciassero i fattori Q (quantità di miscela) e C (concentrazione) e si ripetesse il succitato esperimento su due fogli di carta, dei quali uno di superficie doppia dell'altro, l'esito dell'esperimento farebbe constatare che sul foglio più piccolo si numererebbe un numero maggiore di granuli di ECE, rispetto al foglio più grande e sempre sulla stessa frazione di superficie; cioè risulterebbe che l'efficacia (E) della miscela sarebbe inversamente proporzionale alla superficie di spargimento (S).

Fattore V. – È intuitivo, oltre che facilmente rilevabile, che il tossico per contatto nei confronti di un soggetto qualsiasi si dimostrerà tanto più efficace, quanto maggiore sarà la superficie di contatto fra il tossico ed il soggetto: infatti, paragonando, per comodità di dimostrazione, la superficie del soggetto (cavalletta) ad una

membrana filtrante ed il tossico per contatto ad un liquido, si constaterà che la quantità di principio attivo, filtrata dalla membrana (= tossico assorbito dalle cavallette), sarà direttamente proporzionale alla superficie di contatto fra membrana e liquido: cioè per gli esperimenti in cui si siano stabilite maggiori superfici di contatto fra membrana e liquido, corrisponderanno filtrate (=assorbite dalla cavalletta) maggiori quantità di tossico. Poichè, del resto, l'ampiezza delle superfici di una quantità determinata di una sostanza è in rapporto diretto alla suddivisione di quella sostanza: cioè quanto minore è la grandezza, o volume (V), delle singole particelle di quella sostanza, tanto maggiore sarà la superficie assunta da una determinata quantità di sostanza. Nel caso dell'ECE quindi l'efficacia (E) di esso, per le cavallette sarà inversamente proporzionale al volume (V) delle particelle di cui è costituito (granelli).

Passando a dimostrare tale assunto per i miscugli con ECE apparirà chiaro che l'equazione è ancor più valida, poichè, quanto maggiore sarà il volume dei singoli granelli della sostanza inerte miscelata all'ECE, tanto maggiore sarà il numero delle particelle di antiacridico che vi aderirà, particelle quindi che in gran parte resteranno inutilizzate, perchè, di conseguenza, anzichè aderire ai tegumenti delle cavallette, in una certa misura aderiranno ai granelli di materiale inerte.

Perciò quanto minore sarà il volume delle singole particelle, costituenti la miscela ECE con materialè inerte, tanto maggiore risulterà l'efficacia della miscela medesima: cioè, invariati lasciando gli altri fattori (C, Q, S) l'efficacia (E) della miscela sarà inversamente proporzionale alla entità del volume (V) delle singole particelle costituenti il miscuglio. Ne consegue che a un miscuglio formato da elementi o corpuscoli assai piccoli corrisponderà, ferme restando le altre condizioni una maggiore efficacia.

Riunendo tutti i termini dell'equazione di cui si è espressa la dimostrazione in funzione dell'efficacia (E), si ottiene:

$$E = \frac{C \cdot Q}{S \cdot V} .$$

cioè quello che si voleva dimostrare.

Si nota però che in una campagna di lotta l'importanza del fattore V (volume e grandezza delle singole particelle del miscuglio) non ha una così spiccata importanza come quella dei fattori C, Q, ed S; del resto, il volume delle singole particelle del miscuglio è, in una certa

misura, predestinato, sia per il prodotto a base di ECE (che viene fornito così come è dal Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste), sia per i materiali inerti da adoperare per la miscela: volume che per la bentonite è già molto esiguo e perciò soddisfacente (ciò militererebbe a favore della adozione di un metodo di lotta basato sul miscuglio bentonite–ECE, anzichè quello terre–ECE), mentre che per la terra, da mescolare con l'ECE, non si può arrivare oltre un certo limite di finezza (anche per l'eterogeneità dei costituenti), limite che è imposto dalle necessità e dalle attrezzature per la lotta antiacridica; altrimenti sarebbe necessaria un'attrezzatura addirittura industriale, per poter ottenere un'estrema suddivisione delle particelle del terreno, cosa che, ovviamente, non è nemmeno da pigliarsi in considerazione.

Per la pratica condotta della lotta contro le cavallette con miscele a base di ECE, appare quindi evidente che le condizioni imprescindibili per la buona riuscita sono: a d e g u a t a c o n c e n t r a z i o n e d i p r i n c i p i o a t t i v o e s u f f i c i e n t e q u a n t i t à d i m i s c e l a p e r h a . d i s u p e r f i c i e t r a t t a t a . Ogni altra considerazione, di fronte a tali fattori, risulta di scarsissimo interesse; almeno esagerate quindi appaiono tutte le riserve che si fanno, per la mancata efficacia in atto delle miscele antiacridiche con ECE.

In genere tale mancata efficacia dipenderà, quasi sempre, dal non aver rispettato le proporzioni fra i fattori: concentrazione e quantità per ha. $\left(C \cdot \frac{Q}{S}\right)$; per cui allo scopo di poter valutare la efficacia delle miscele antiacridiche in funzione delle diverse concentrazioni (= percentuale di principio attivo), si è ritenuto necessario stabilire il valore di $\frac{Q}{S}$ (quantità per ettaro), che, nel corso degli esperimenti effettuati, è stato sperimentalmente valutato con scandagli pratici ed in seguito assunto come termine fisso per ciascun tipo di miscela; tale valore stabilito di volta in volta, sarà espresso nel presente lavoro tra le relazioni riassuntive delle prove.

Per la preparazione delle miscele è di un certo valore inoltre l'entità del peso specifico del materiale inerte, che si adopera per diluire l'ECE.

Infatti, quando le miscele da spargersi a mano, debbano essere fatte con altri materiali, anzichè con la terra, le proporzioni di mescolanza con l'antiacridico, dovranno essere le stesse di quelle usate per la miscela terra–ECE, però occorre che vengano rispettati i volumi

e non i pesi: se per es. si abbia da preparare l'ECE in mescolanza con la sabbia, si dovranno pesare kg. 6 di ECE e mescolarli ad un volume di sabbia uguale esattamente al volume di kg. 94 di terra (la terra, senza scheletro, ha quasi lo stesso peso specifico apparente dell'acqua, per conseguenza kg. 94 di terra corrispondono in volume a litri 94); tale volume di sabbia (più pesante della terra) corrisponderà a kg. 150 circa. Perciò se la miscela con sabbia dovesse farsi tenendo presente il peso (erroneamente) e non il volume, si otterrebbe un miscuglio con ECE, in questo caso, più efficace ma avente un minor potere coprente; infatti, tale miscela, avrebbe potuto coprire, nelle medesime condizioni di impiego, appena i 2/3 della superficie trattabile con eguale peso di miscela terra–ECE. Però, essendo superflua una maggiore tossicità del miscuglio sabbia –ECE, così preparato (in peso e non in volume), è da ritenersi effettivamente di aver operato con un inutile spreco. Si tenga presente pure che lo spargimento delle miscele antiacridiche viene effettuato comunemente secondo il valore dei volumi e non dei pesi: evidentemente l'operaio che sparge alla volata manciate di miscela su di un'orda di cavallette, si preoccupa (o dovrebbe preoccuparsi) di coprire più o meno uniformemente il terreno (e di conseguenza le cavallette) non essendo di alcuna importanza il peso del prodotto col quale si opera; ciò significa che lo spargimento avviene appunto in rapporto ai volumi e non ai pesi.

Pertanto, quanto maggiore è il peso specifico della miscela, tanto maggiore sarà la quantità (in peso) che si dovrà usare per ettaro di superficie trattata. Dovrà perciò curarsi che durante la preparazione della miscela con ECE (inalterata restando la quantità di questo), la sostituzione della terra (o della bentonite) sarà fatta a parità di volume e non di peso. Ciò è avvalorato dalla osservazione che il potere tossico per contatto delle miscele con ECE è proporzionato al numero delle particelle di principio attivo, che, fra quelle della miscela, vadano ad aderire sui tegumenti delle cavallette; e tale potere tossico evidentemente sarà uguale per i due tipi di miscele che siano formate con due diversi materiali inerti (per es. terra e sabbia) anche se ogni granello di uno dei materiali usati per la miscela sarà di diverso peso dei corrispondenti granelli dell'altro tipo di materiale inerte, purchè, in definitiva, sui tegumenti delle cavallette, la proporzione numerica dei granelli del tossico sia costante nei due tipi della miscela (con terra e con sabbia). Cioè l'efficacia resterà uguale, purchè i volumi delle miscele restino uguali, ferme restando tutte le altre condizioni: con ciò si è appunto dimostrato che la mescolanza delle miscele con ECE dovrà

essere fatta in proporzione ai volumi e non ai pesi dei materiali inerti con cui l'antiacridico è mescolato.

Da alcuni tecnici si è anche insistito che grande influenza avrebbe l'età delle cavallette sull'efficacia della miscela. Pur non negando in linea assoluta che vi siano differenze nell'efficacia di una stessa miscela adoperata contro cavallette di diverse età, si è del parere però — a seguito degli esperimenti condotti — che tali differenze, almeno per il periodo biologico in cui si sono svolti gli esperimenti (dalla seconda età in poi), siano meno apprezzabili di quanto comunemente si ritenga e di quanto abbia preoccupato sin'ora i tecnici nella pratica condotta della lotta; per cui, in pratica, anche le miscele con ECE a bassa concentrazione sono ugualmente efficaci per le cavallette delle diverse età.

Piuttosto risulta che, al lume delle osservazioni effettuate, per questi insetti, individualmente considerati, si presentano periodi di maggiore e minore resistenza ai tossici per contatto. Tali periodi si identificano con le vicende della muta: è stato cioè constatato che le cavallette prossime alla muta sono meno sensibili all'azione dell'ECE, nei confronti delle cavallette che dalla muta ne siano lontane, mentre avviene il contrario per quelle che da poco abbiano abbandonate le spoglie larvali e ninfali.

A ciò concorrono alcuni fattori:

1) per le cavallette prossime alla muta si determina una maggiore resistenza ai trattamenti con ECE, perchè in questo periodo le medesime non si cibano (viene quindi esclusa una eventuale e concomitante azione tossica per ingestione dell'ECE);

2) la cuticola delle cavallette prima della muta si presenta meno penetrabile al tossico;

3) l'azione per contatto dell'ECE, poi, viene completamente a mancare, una volta che gli insetti si siano liberati della spoglia larvale e con essa del tossico aderente;

4) al contrario, le cavallette che, avendo da poco effettuata la muta, siano sottoposte all'azione dell'ECE, si mostrano assai più sensibili agli effetti tossici, perchè la nuova cuticola, essendo umida, è più adesiva per le polveri tossiche e, presentandosi meno indurita, risulta più penetrabile all'ECE;

5) scarse sono le possibilità delle cavallette, dopo la muta, di trarsi fuori dalla zona di spargimento dell'ECE, in dipendenza della forzata immobilità cui sono costrette, finchè i tegumenti non siano bene asciugati e induriti.

Esposizione dei risultati sperimentali

a) Esperimenti con miscela terra – ECE*

Tenuto conto che le squadre di spargimento, impiegate dal centro lotta di Manfredonia (fra i più organizzati), impiegano circa q.li 15 di miscela di terra per ha., è stata scelta la quantità di q.li 15 per ha. come fattore fisso $\left(\text{valore di } \frac{Q}{S}\right)$; in relazione a ciò si è provveduto a sperimentare la miscela terra–ECE a diverse percentuali. I trattamenti sono stati eseguiti a mano, a mo' di semina a spaglio.

Con miscela terra–ECE al 4 % di prodotto antiacridico (terra fine kg. 96, ECE kg. 4) i risultati ottenuti sperimentalmente su orde di cavallette di 2ª 3ª e 4ª età, sono stati poco convincenti; perchè non sempre efficaci (variabilità di effetti in relazione alle piccole varianti contingenti: quantità per ha., condizioni meteoriche, ecc.).

La miscela al 5 % di ECE invece risponde sufficientemente ai fini pratici, benchè spesso le cavallette trattate muoiano con un certo ritardo (3 e 4 giorni).

La miscela a concentrazione superiore (6–7 %) ha dimostrato aver effetto più pronto.

Quadro riassuntivo delle prove effettuate e dei risultati ottenuti

Miscele terra–ECE antiacridico		Indice (%) di mortalità riscontrato entro il termine di ore			
Concentrazione in ECE %	Quintali per ha.	24	48	72	96
4	15	5–10	10–35	15–60	25–100
5	15	15–20	40–60	75–100	100
6	15	50	75–90	100	—
7	15	80	100	—	—

Le suddette prove sono state condotte quasi simultaneamente su orde composte in prevalenza da individui di 3ª e 4ª età; in prosieguo di tempo anche su orde con cavallette ninfali e adulte, usando le medesime concentrazioni e quantità, che hanno dato, in media, risultati simili a quelli esposti nel precedente specchio, per cui se ne omette la ripetizione.

---

* Si noti che ogni qual volta nel corso di questo lavoro si parla di ECE, si intende riferirsi allo speciale prodotto antiacridico al 20 % di isomeri.

Naturalmente è chiaro che per ogni concentrazione sono state fatte numerosissime prove; infatti le cifre dianzi esposte (nonchè quelle di tutti gli altri specchi che seguono), rappresentano le punte minime e massime riscontrate negli indici di mortalità per ciascun gruppo di prove.

I risultati riportati nel quadro riassuntivo per la miscela al 4 % si spiegano con la scarsa costanza di efficacia di essa nelle diverse prove: devesi perciò ritenere che, nella sperimentazione condotta, la miscela a tale concentrazione è dotata di tossicità limite, possedendo appunto un'efficacia che raggiunge la soglia letale, qualora si verifichino particolari e vantaggiose condizioni, cioè: optimum dal punto di vista biologico, ambientale e climatico (fattori del resto che ancor oggi non sono troppo ben noti). Con tale rapporto minimo $\left(C \cdot \frac{Q}{S} = \text{miscela al } 4\,\% \text{ con q.li } 15 \text{ per ha.}\right)$ l'efficacia antiacridica resta inconstante ed oscillante con le piccole varianti contingenti.

Con ciò viene in chiaro che, ai fini pratici della lotta, sarà sufficiente adottare la miscela di terra al 5–6 % di prodotto a base di ECE, spargendo q.li 15 per ha. *, assicurando tale rapporto un sufficiente margine di sicurezza.

b) Esperimenti con miscela bentonite–ECE

Col nome di bentonite vengono comunemente designate argille varie, in cui entra costantemente un minerale: montmorillonite (e spesso beidellite). Tali argille sono state rinvenute in Italia in vari giacimenti, ma soprattutto conosciuti sono quelli dell'isola di Ponza e dell'agro di San Severo (Foggia).

Benchè la bentonite possieda alcune proprietà insetticide, il suo uso negli esperimenti di lotta contro le cavallette non è dovuto però a questa caratteristica — evidentemente nei confronti dei tossici ben più potenti usati contro le cavallette, le modeste proprietà insetticide a lungo effetto, per nulla sicure in questo caso, di tale minerale, non potrebbero pesare quasi affatto nella lotta antiacridica, che di

---

* Per i comprensori dove le squadre di spargimento siano abituate a distribuire non più di 7–8 q.li per ha. di miscela, occorrerà che la concentrazione di questa salga all'8–10 %, perchè sia efficace; ciò è stato sperimentalmente constatato e conferma la validità dell'equazione $E = C \cdot \frac{Q}{S}$.

anno in anno si rinnova, nonostante l'impiego di enormi capitali e di costosi veleni — ma solamente al basso costo e al notevole grado di finezza, nonchè alla relativa leggerezza di questo prodotto nei confronti della terra; elementi che favorirebbero l'adozione appunto della bentonite sia da un punto di vista economico che tecnico. Infatti con essa verrebbe favorita una migliore mescolanza con i prodotti a base di ECE, acquistando inoltre, in tal maniera, la miscela una maggiore superficie di contatto nei confronti delle cavallette e la possibilità di un più uniforme spargimento.

Negli esperimenti effettuati è stata adoperata la « bentonite tipo B » (maglie 11.000 circa) di produzione pugliese. La stessa si presenta come polvere di color bianco–isabellino, impalpabile e di notevole leggerezza. Allo scopo della sperimentazione si son volute riscontrare le possibilità d'impiego di tale sostanza in riferimento alle modalità di spargimento ed alle percentuali di mescolanza con l'ECE, dal punto di vista di una lotta efficace e conveniente anche nei riguardi economici.

Tale sperimentazione è scaturita dall'evidente esigenza di trovare un'altra sostanza per la miscela con l'ECE, non potendo la terra, per ovvii fattori di ordine fisico (grossolanità, peso specifico, scarsa uniformità, elevata umidità eventuale, ecc.), consentire il più razionale impiego della miscela antiacridica; a ciò si assommano inoltre ben giustificate preoccupazioni economiche a causa del sensibile impiego della mano d'opera richiesta per la preparazione e spargimento della terra.

Circa i metodi di spargimento e relative ricerche sulle quantità di miscela occorrenti per ha., sono state eseguite le seguenti prove:

1) Spargimento a mano

È stata sperimentata la miscela con bentonite adottando il metodo dello spargimento a mano.

A parte i risultati poco notevoli ottenuti (per l'insufficiente concentrazione di ECE con cui sono state iniziate le prove), va posto in rilievo che non è possibile adottare questo metodo, perchè la miscela riesce poco maneggevole durante lo spargimento a causa della grande finezza e leggerezza, e pertanto sfuggendo facilmente dal pugno dell'operaio, viene sparsa con insufficiente uniformità.

Dalle prove eseguite a tale maniera è risultato che per coprire un ha. di terreno, occorrono q.li 2,5 circa $\left(\text{valore di } \frac{Q}{S}\right)$ di miscela di bentonite.

Per quanto anzidetto il rendimento medio degli operai in tale lavoro è notevolmente inferiore a quello che si ottiene con la miscela di terra, per cui non si è insistito oltre con la sperimentazione di tale metodo, dovendosi esso scartare per gli inconvenienti tecnici ed economici rilevati.

2) Spargimento con solforatore a stantuffo spalleggiato

È stata adoperata una comune solforatrice da vigna, che si è dimostrata poco idonea all'impiego tecnico contro le cavallette: infatti, l'erogazione della miscela di bentonite risultava di insufficiente portata e comunque poco costante (getto a principio assai denso e in seguito via via decrescente), per cui non si è ritenuto adatto tale arnese ad un tempestivo e veloce intervento, assolutamente necessario al trattamento delle orde.

Anche l'impiego di detto solforatore quindi è stato scartato.

3) Spargimento con soffietto a mantice.

Adoperando il soffietto a mantice del tipo impiegato nella solforazione delle viti, della capienza di kg. 1 circa, sono state condotte più prove e da esse è risultato che è necessario, in media, circa 1 q.le di miscela di bentonite per ha. di superficie da coprire.

Il rendimento medio giornaliero di una squadra di operai, adibiti alla manovra, risulta solo lievemente inferiore, rispetto alla superficie trattata, nei confronti della miscela con terra. Tale rendimento, ad ogni modo, potrà essere senz'altro aumentato e anche raddoppiato, qualora si abbia la possibilità di impiegare polverizzatori adatti e soprattutto di maggiore capienza.

Ai fini sperimentali comunque, si è ritenuto rispondente dal punto di vista tecnico l'impiego di tale soffietto, con il quale sono state condotte le diverse prove dirette a stabilire la più idonea concentrazione di ECE nella miscela di bentonite per la lotta antiacridica.

Le prove sono state fatte aumentando gradatamente la percentuale dell'ECE nella bentonite, invariato lasciando il fattore quantità $\left(\frac{Q}{S}\right)$ per unità di superficie trattata (q.li 1 per ha.). Si è cercato inoltre, nei limiti del possibile, di affrettare al massimo tali prove, allo scopo di agire con una certa uniformità di condizioni (età delle cavallette, clima, stato dei pascoli, ecc.).

I risultati ottenuti con gli esperimenti di bentonite al 5 % di ECE antiacridico si sono dimostrati ben poco apprezzabili e solo lievemente migliori con percentuali maggiori (10–15 %). Risultati

di una certa efficacia sono stati ottenuti con miscela al 25 % e senz'altro buoni con bentonite al 35 %.

Quadro riassuntivo delle prove effettuate e dei risultati ottenuti

Miscela bentonite–ECE antiacridico		Indice (%) di mortalità riscontrato entro il termine di ore			
Concentrazione in ECE %	Quintali per ha.	24	48	72	96
5	1	2–5	5	5	5
10	1	5–10	10–15	15–20	20
15	1	15	20	20–30	35
20	1	30–35	30–40	40–50	60
25	1	40	50–60	60–70	75
30	1	70	70–75	80	85–100
35	1	95	100	—	—

Considerata l'elevata mortalità verificatasi entro le 24 ore con la miscela bentonite–ECE al 35 %, si ritiene, al lume dei risultati ottenuti, che tale concentrazione sia sufficientemente idonea per la lotta contro le cavallette, anche in considerazione della efficacia rivelatasi non ostante le particolari condizioni stabilitesi dopo l'approntamento delle prove con miscela al 35 % di ECE: infatti un'abbondante pioggia, dopo 5 ore dallo spargimento della miscela, dilavava e cavallette e terreno, asportando buona parte del tossico. Con ciò è evidente che l'azione di tale miscela riusciva compiutamente efficace, essendo stato sufficiente a determinare una così alta mortalità nelle cavallette il tossico assorbito pressochè in 5 ore soltanto.

Secondo la sperimentazione condotta pertanto resta acquisito che la miscela di bentonite, al 35 % di ECE antiacridico (bentonite kg. 65–ECE kg. 35), nella quantità di q.li 1 per ha., sia pienamente efficace, sempre che venga sparsa con opportuni polverizzatori.

c) Esperimenti con miscela (esca) crusca–ECE antiacridico

Tale sperimentazione è stata compiuta dal 6 all'11 giugno in agro di Manduria (Taranto). In tale epoca si è dovuto operare, naturalmente, su cavallette esclusivamente adulte ed anzi in fase di accoppiamento e spesso di deposizione. Si noti che la mobilità di tali orde, specie durante le ore calde della giornata, era notevolissima.

È stato sperimentato l'impiego di crusca miscelata con ECE; tale miscela è stata provata secondo due diverse modalità di mescolamento e cioè: rimescolando più volte la crusca secca con l'ECE, effettuando in seguito l'impasto con acqua (70 %), oppure mescolando l'ECE anticipatamente in acqua (curando di mantenerlo bene in sospensione) e in seguito effettuando l'impasto della crusca aggiungendovi tale miscuglio liquido.

Dal punto di vista tecnico, i due metodi possono considerarsi equivalenti qualora vengano ben applicati, però, il secondo riesce più economico (come sarà più oltre illustrato) e meno fastidioso per i tecnici e gli operai: infatti, durante la lavorazione, non si solleva l'immancabile pulviscolo di esaclorocicloesano, che a lungo andare può riuscire irritante ed anche nocivo.

Con l'esca crusca–ECE è stato usato lo spargimento a mano alla volata. Da scandagli effettuati è stato riconosciuto che la quantità sparsa dalle squadre locali per la lotta contro le cavallette, è di q.li 3,5 di esca per ha. $\left(\text{valore di } \frac{Q}{S}\right)$.

Su tale base si è provveduto ad intraprendere la sperimentazione, provando con diverse concentrazioni di ECE antiacridico, che questa volta veniva impiegato quale tossico per ingestione, anzichè per contatto.

Quadro riassuntivo delle prove effettuate e dei risultati ottenuti

Esca: crusca–acqua–ECE antiacridico		Indice (%) di mortalità riscontrato entro il termine di ore			
Concentrazione in ECE %	Quintali per Ha.	24	48	72	96
0,30	3,5	0–5	3–7	3–10	3–10
0,60	3,5	5–10	5–20	15–30	20–35
0,90	3,5	20–30	25–40	30–50	30–65
1,20	3,5	30–35	40–50	75–100	100

A seguito delle prove effettuate è risultato che l'esca alla crusca (con aggiunta di acqua in ragione di litri 70 per ogni q.le di crusca) all'1,20 % di ECE antiacridico, si è rivelata efficace nella lotta contro le cavallette, dando risultati senz'altro buoni e non inferiori a quelli ottenibili con altri tipi di miscela in normale quantità e concentrazione di principio attivo.

Confronto tecnico dei metodi di lotta: metodi con miscela terra–ECE, bentonite–ECE e crusca–ECE

Nel corso della sperimentazione è stato controllato che l'effettiva quantità di miscela terra–ECE, praticamente sparsa dalle squadre addette alla lotta antiacridica, in Manfredonia (Foggia), raggiunge i q/li 15 per ha. (nè è possibile, allo scopo di economia d'impiego, l'uso di polverizzatori per adoperare tale miscela, poichè la terra con le sue normali caratteristiche fisiche non vi si presta). Con tale rapporto va ritenuto che per una lotta efficace, dovrebbe essere usata la concentrazione del 5–6 % di ECE antiacridico nella terra, impiegando appunto la quantità di q.li 15 per ha. *.

Per l'impiego invece del miscuglio bentonite–ECE, riconosciutasi sufficiente la quantità di q.li 1 per ha. dovrà raggiungersi la concentrazione del 35–40 % di ECE antiacridico.

Va osservato che le miscele antiacridiche con terra e quelle con crusca, richiedono lo spargimento a mano tipo « semina a spaglio », mentre la miscela con bentonite rende necessario l'uso di adatti polverizzatori di conveniente potenza di erogazione. Ciò limita in una certa misura l'impiego del miscuglio con bentonite **, ma a tale limitazione potrebbe ovviarsi con opportune modifiche all'attuale orientamento tecnico della lotta.

---

* Errato è lo scetticismo di alcuni tecnici nel considerare l'apparentemente inspiegabile scarsa costanza di tossicità dei prodotti a base di ECE nella lotta contro le cavallette: spesso, infatti, non sarà stato tenuto conto del fattore, assai importante, quantità per ha. $\left(\frac{Q}{S}\right)$.

Si noti infatti che, in agro di Taranto, alcuni trattamenti, effettuati a mezzo di apposite squadre, con miscela terra–ECE al 6 %, davano esiti poco soddisfacenti, per cui era necessario aumentare la concentrazione in ECE della miscela fino al 10 %; da una rapida indagine effettuata la ragione di tale scarsa efficacia della miscela al 6 % veniva individuata nella insufficiente quantità sparsa per unità di superficie trattata: q.li 8 circa per ha.

Cioè non era stato rispettato il valore proporzionale dei termini dell'equazione $F = C \cdot \frac{Q}{S}$, per cui essendo stato decurtato circa della metà il valore di $\frac{Q}{S}$, si sarebbe dovuto aumentare proporzionalmente il valore di C (concentrazione), che invece era stato mantenuto fisso al 6 %.

** Per la lotta fatta direttamente da parte di privati agricoltori, l'uso della miscela con terra non pare facilmente rimpiazzabile con altro metodo, e ciò perchè non sarebbe sempre possibile esigere dagli agricoltori l'acquisto di acconci polverizzatori. Per le squadre invece organizzate dagli organi periferici del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste l'uso del miscuglio con bentonite dovrebbe essere attuato senza difficoltà, sempre che vengano dati in dotazione adatti polverizzatori.

Questo nuovo metodo, quindi, resta limitato solo dalle avverse condizioni meteoriche (pioggia e vento), che del resto, pure in misura sensibile, incidono sull'efficacia degli altri metodi. In favore invece dell'uso della miscela alla bentonite milita l'osservazione che, contro le cavallette alate, tale miscela sia più efficace, perchè, in grazia della sua leggerezza ed impalpabilità, viene più facilmente a raggiungere gli insetti durante lo stesso tentativo di allontanarsi a volo, sia per l'impulso ricevuto nell'uscire dai soffietti che per il coadiuvante soffio di qualche leggera brezza; e ciò assai meglio che non con la miscela di terra.

Per la lotta fatta con la miscela alla crusca si è riscontrato che, dal punto di vista tecnico, essa dà buon esito, permettendo una grande economia di antiacridico. Si ritiene però che tale metodo non si possa da solo adottare nella pratica condotta della lotta contro le cavallette, perchè, come è noto, solo nelle prime ore di luce della mattina (3 ore circa) riesce giovevole l'uso di tale esca. Infatti, durante le ore calde, la crusca si dissecca velocemente e conseguentemente le cavallette più non l'appetiscono, e l'esca resta perciò inutilizzata.

È evidente che con tale limitazione di tempo la lotta basata esclusivamente su tale metodo andrebbe assai per le lunghe, finendo per diventare con ciò difficile e anche antieconomica. Nè d'altro canto sarebbe conveniente aumentare il numero degli operai, ai quali spetterebbe ugualmente essere pagati per l'intera giornata lavorativa.

Perciò si conclude che la miscela crusca–ECE, pur essendo di vantaggiosissimo impiego, non può essere esclusivamente impiegata in una campagna di lotta, ma deve essere integrata con altro metodo, in modo che risulti possibile l'utilizzazione piena della mano d'opera per le normali otto ore lavorative.

Considerazioni economiche in rapporto ai metodi di lotta sperimentati

Qui di seguito si riportano i dati tecnici, sperimentalmente accertati, con i costi relativi alla miscela antiacridica ed alla mano d'opera di normale fabbisogno per il trattamento di ha. 1.

Si chiarisce che negli specchi che seguono non vengono considerati nè gli attrezzi, nè i mezzi di trasporto (a scopo di semplificazione), non potendosi evidentemente dare alcun valore economico fisso a tali voci, assai variabili da tipo a tipo, in dipendenza pure delle esigenze e delle caratteristiche di giacitura delle aree infeste; infatti, assai complicato sarebbe tentare tali apprezzamenti economici, dovendosi

tenere anche conto del diverso coefficiente di ammortamento del capitale di acquisto, che ciascun tipo di attrezzo o mezzo richiederebbe nei riguardi della diversa durata in efficienza o resistenza all'usura.

I) Lotta effettuata a mezzo miscela con terra al 5% di ECE antiacridico

Fabbisogno mezzi tecnici e mano d'opera per ha.	Quantità media	Costo medio
Terra setacciata *	Kg. 1425	L. 1.500 —
ECE antiacridico	» 75	» 30.000 —
Ore lavorative occorrenti allo spargimento	n. 8	» 720 —
Costo della lotta per ha. trattato		L. 32.220 —

II) Lotta effettuata a mezzo miscela con bentonite al 35% di ECE antiacridico

Fabbisogno mezzi tecnici e mano d'opera per ha.	Quantità media	Costo medio
Bentonite	Kg. 65	L. 975 —
ECE antiacridico	» 35	» 14.000 —
Ore lavorative occorrenti allo spargimento **	n. 9	» 810 —
Costo della lotta per ha. trattato		L. 15.785 —

III) Lotta effettuata a mezzo esca con crusca all'1,20% di ECE antiacridico

Fabbisogno mezzi tecnici e mano d'opera per ha.	Quantità media	Costo medio
Crusca	Kg. 200	L. 5.200 —
Acqua	» 146	» 3 —
ECE antiacridico	» 4,200	» 1.680 —
Ore lavorative occorrenti allo spargimento	n. 8	» 720 —
Costo della lotta per ha. trattato		L. 7.603 —

* Il costo della terra è stato approssimativamente calcolato tenendo conto soltanto delle spese di zappatura, crivellatura e trasporto ai magazzini di miscela.

** Il numero delle ore lavorative, occorrenti per lo spargimento della miscela con bentonite, è stato calcolato in base alla resa ottenuta con l'impiego dei soffietti con cui è stata fatta la sperimentazione. Naturalmente con polverizzatori di maggiore capienza, o comunque perfezionati, la resa per ha. nei confronti del tempo impiegato sarà proporzionatamente superiore.

A scopo integrativo si riporta la seguente tabella con il numero di ore lavorative occorrenti per effettuare la miscela dei miscugli antiacridici considerati, nonchè il relativo costo in riferimento alle quantità occorrenti per ha.:

Tabella comparativa delle spese di mano d'opera occorrenti per la preparazione dei diversi tipi di miscela

	Miscela con:		
	Terra	Bentonite	Crusca
Ore lavorative occorrenti alla preparazione di q.li 10 di miscela . . .	h. 10	h. 12	h. 20
Costo della mano d'opera	L. 900	L. 1.080	L. 1.800
Spesa media per ha.	» 1.350	» 108	» 630

I dati riportati per i costi di preparazione dell'esca alla crusca si riferiscono al metodo di mescolanza « ad umido », perchè più conveniente dal punto di vista economico, oltre che da quello tecnico, perchè, tale metodo, già descritto in precedenza, da scandagli sperimentali eseguiti, è risultato richiedere un minor numero di ore lavorative, e ciò perchè la preparazione dell'esca, in tale maniera, avviene con una sola mescolanza (crusca–ECE stemperato in acqua), e non in due tempi, come è necessario invece col metodo della miscela a secco (crusca + ECE polverulento e successiva rimescolanza con acqua). Considerato quindi il costo generale della lotta (sempre prescindendo dalle spese di trasporto e di attrezzatura), riferita ad un ha., risulta, per ciascun metodo di lotta, la seguente spesa:

	Miscela con:		
	Terra	Bentonite	Crusca
Importo delle spese di lotta per ogni ha. trattato	L. 33.550 —	L. 15.893 —	L. 8.233 —

Sulla scorta delle cifre esposte appare assai evidente la convenienza economica dell'uso della miscela antiacridica crusca–ECE; per quanto però sia senz'altro da preferirsi tale metodo, da un punto di vista economico però, di più larga visione, non sarebbe davvero esatto escludere gli altri sistemi di lotta. Infatti una campagna di lotta, basata sull'impiego del solo metodo crusca–ECE, finirebbe per diventare addirittura antieconomica (nei confronti degli altri metodi); perchè le squadre che spargono l'esca potrebbero proficuamente condurre la

lotta antiacridica limitatamente a tre ore circa al giorno (come detto precedentemente). Non vi sarà certo chi non si renda conto che in tale maniera la lotta andrebbe assai per le lunghe, divenendo così anche difficile tecnicamente per il fatto che di giorno in giorno le orde del *Dociostaurus* coprono sempre più vaste zone, in rapporto diretto all'aumento somatico dell'individuo–cavalletta (notevolissimo) dalla 1ª età allo stadio adulto, fino a coprire interi comprensori, una volta che, diventati alati, si siano sparpagliati. È chiaro con ciò che una lotta diventata difficile dal punto di vista tecnico dev'essere, in questo caso, considerata anche antieconomica: infatti prolungare l'impiego degli antiacridici e della mano d'opera nel tempo e nello spazio vuol dire moltiplicare le spese che originariamente potevano essere contenute, sia pur impiegando altri sistemi di lotta che apparentemente potevano sembrare meno economici.

Perciò l'uso dell'esca crusca–ECE sarà adottato, da solo, qualora occorrerà disinfestare limitate zone, in cui le cavallette possono essere speditamente e compiutamente combattute.

Invece nei comprensori dove la lotta viene di anno in anno ripetuta senza che sia stato possibile debellare l'infestazione, e ciò per la gravità dell'infestione stessa e per la vastità del territorio da controllare, appare indispensabile impiegare oltre l'esca crusca–ECE, anche un altro dei metodi considerati. Fra questi metodi, da potersi adottare, si ritiene che non potrà più oltre essere generalmente consigliato, salvo casi particolari, quello terra–ECE, sin qui largamente adoperato in intere regioni. Tale considerazione scaturisce di conseguenza da tutta la precedente disamina economica, che ne ha dimostrato, nei confronti degli altri metodi, il maggior costo.

La pratica condotta di lotta con miscela alla bentonite (preferibilmente insieme all'uso dell'esca con crusca), non ostante la maggiore concentrazione di ECE occorrente per q.le di miscela, elimina il grande sperpero di tale prodotto che, mentre per la miscela con terra va impiegato nella quantità minima di kg. 75 per ha., per la miscela alla bentonite, invece, è risultato che sarebbero sufficienti kg. 35 di ECE antiacridico per ha., almeno con pari efficacia *.

---

* Nei comprensori, dove le squadre operano con 7–8 q.li per ha., è stato accertato che la concentrazione al 5–6 % di ECE antiacridico nella miscela con terra è insufficiente a liquidare le orde delle cavallette. Perciò non è possibile con la miscela terra–ECE economizzare l'antiacridico, che, qualunque sia la quantità di miscela sparsa per ha., dovrebbe raggiungere pressocchè il valore di kg. 75 per ha.

A ciò si aggiunga ancora l'economia effettuabile per il notevole risparmio di mezzi (facchinaggio, trasporto, ecc), che il sistema alla bentonite rende possibile perchè, a parità di superficie da trattare, richiede il consumo della quindicesima parte (in peso) soltanto di miscuglio, nei confronti del sistema con la terra.

CONCLUSIONI

Al lume delle suddette osservazioni appare evidente che l'adozione del metodo di lotta sperimentato, cioè l'uso della bentonite (o qualsiasi altro prodotto similare), unitamente a quello della crusca, risulterà assai più economico dell'impiego esclusivo della miscela con terra, nonostante che il prezzo di acquisto di quest'ultima sia normalmente nullo, mentre quello della bentonite sperimentata sia (attualmente) di L. 1500 al q.le.

Tali considerazioni in effetti non vengono sostanzialmente infirmate nemmeno dalle considerazioni economiche per la notevole spesa iniziale occorrente all'acquisto di adatti polverizzatori o soffietti. Perchè, considerando le cifre dianzi esposte, tale spesa apparirà certamente inferiore alla differenza fra costo della lotta con miscuglio di terra e quello con miscuglio di bentonite, anche volendo considerare lo spargimento su di un solo ha.

Si è del parere quindi che l'esperienze illustrate e le considerazioni conclusive che ne sono derivate, permettono di considerare la lotta antiacridica sotto un profilo diverso da quello sin qui seguito ed attuato e che, come si sa, non era soltanto il risultato di considerazioni tecniche ed economiche, ma anche l'effetto delle limitazioni sulle sostanze alimentari (crusca, ecc.) imposte dalle contingenze belliche.

Le mutate possibilità odierne (la crescente disponibilità di mangime per uso zootecnico e la più ampia sperimentazione tecnico–economica condottasi) permettono appunto di considerare su di un piano diverso il complesso della lotta antiadridica; in tal senso, appunto, si ritiene che il contributo sperimentale, illustrato su questa nota, possa riuscire di utile orientamento.

RIASSUNTO

L'A. ha sperimentato in pieno campo l'efficacia dell'ECE in miscela con la terra, con la bentonite e con la crusca, nella lotta contro le cavallette, stabilendone le dosi utili ed i limiti di impiego.

A tali risultati sperimentali fa precedere la disamina scientifica dei fattori che influenzano l'efficacia delle miscele tossiche, pervenendo alla enunciazione di una legge matematica da tenersi presente per la formulazione e l'uso delle miscele antiparassitarie aventi azione di contatto.

Segue la discussione tecnica dei metodi di lotta sperimentati con l'ECE antiacridico e il confronto economico dei diversi metodi; nella conclusione infine l'A. dà espliciti suggerimenti per una efficiente campagna di lotta, sotto il punto di vista tecnico e sotto quello economico.

SUMMARY

LOCUST CONTROL

EXPERIMENTAL FINDINGS ON THE USE OF HEXACHLOROCYCLOHEXANE AND TECHNICO-ECONOMICAL COMPARISON OF THREE DIVERSE METHODS OF EMPLOYMENT

by Augusto de Robertis

The author has experimented in the field on the efficacy of hexachlorocyclohexane mixed with earth, with bentonite and with bran in the fight against the locusts, establishing the useful dosages and the limits of employment.

He prefaces such experimental results with a scientific examination of the factors which influence the efficacy of toxic mixtures, arriving at the enunciation of a mathematical law which must be taken into account in the formulation and the use of such contact insecticides.

The technical discussion of methods of experimental fighting with anti-locust hexachlorocyclohexane and the economic comparison of various methods follows. Finally, in conclusion, the author gives explicit suggestions for an effective campaign of control from the technical and economic point of view.

Ricevuto il 16 marzo 1950.

PREPOSTO ALLA PUBBLICAZIONE: GIULIO TRINCHIERI

Finito di stampare il 31 ottobre 1950

SUPPLEMENTO AGLI

ANNALI DELLA SPERIMENTAZIONE AGRARIA

1950, nuova serie, vol. IV, num. 5

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Francesco Scurti)
TORINO

ETTORE BOTTINI

LE MODERNE CONQUISTE DELLA SCIENZA E DELLA TECNICA NELLA VALORIZZAZIONE DELLA NOSTRA PRODUZIONE AGRUMARIA *

È da tempo risaputo che l'agricoltura, nelle sue varie branche, sta attraversando uno dei periodi più duri della sua storia: oggi si lotta per il mantenimento delle posizioni raggiunte più che per l'accaparramento di nuovi mercati. Una dopo l'altra le nostre attività, che hanno tratto con la coltivazione della terra, cadono sotto le forche caudine delle sensibili contrazioni dei prezzi di mercato che sempre più si avvicinano ai prezzi di costo, riducendo a quotazioni insostenibili le aliquote dei profitti. Se è tutt'altro che inopportuna l'analisi delle cause economiche che hanno creato e che mantengono questo increscioso stato di cose, è altrettanto utile nel frattempo la ricerca delle possibilità tecniche capaci di attenuare le scosse troppo brusche di questo agitato dopo-guerra.

L'Italia nonostante la sua posizione incantevole, lo splendore del suo sole, la bellezza del suo cielo, la laboriosità dei suoi figli non è un paese di grandi risorse. Il nostro terreno vuole, per produrre, una somma ingente di lavoro e di capitali e così si giunge alla strana situazione che la frutticoltura non consente, in certi periodi, un reddito remunerativo. In queste circostanze si potrà giungere ad un temperamento, non tanto incrementando la produzione, bensì sforzandosi di raffinarla, di conservarla più saggiamente e di distribuirla più razionalmente. Così potremo competere con gli altri paesi concorrenti sui mercati esteri se sapremo far giungere la frutta a

* Relazione letta al Convegno internazionale di studi sui problemi agrumari mediterranei (Reggio Calabria, 19-23 marzo 1950).

destinazione in perfetto stato, meglio se in epoca diversa da quella della sua maturazione naturale. Un abile ed oculata propaganda dovrà fiancheggiare queste iniziative per educare il consumatore, vincerne le ritrosie ed abituarlo a prodotti che all'estero stanno già affermandosi vittoriosamente sui mercati.

Per risolvere questi problemi, alla scienza e alla tecnica si guarda oggi con ansiosa attesa e non v'è dubbio che, pur non possedendo nè l'una nè l'altra virtù taumaturgiche, esse molto possono fare per alleviare efficacemente il malessere generale della nostra frutticoltura nella quale i migliori tecnici giustamente vedono ancora la più redditizia delle nostre colture, forse la fonte più cospicua della nostra ricchezza.

Fra le poche nostre ricchezze naturali, la produzione agrumaria occupa uno dei primi posti; basti pensare che annualmente si producono un milione e mezzo di quintali di arance, 320.000 q.li di mandarini, 3–4 milioni di q.li di limoni, e che questa coltivazione occupa un gran numero di persone nei lavori d'impianto e di coltivazione degli agrumi e nella utilizzazione della produzione. Dalla Sicilia e dalla Calabria i nostri prodotti agrumari alimentano rigogliose correnti di esportazione: araldi invidiati ed apprezzati di una delle più tipiche espressioni di italianità, dalle caratteristiche elette e nel tempo stesso inconfondibili.

Questo prodotto, così complesso e pur così completo che si differenzia dagli altri per la costituzione anatomica, per la multiformità dei principi che contiene, sembra quasi riflettere il carattere di questo popolo mediterraneo aspro e tenace e pur così ricco di fulgide estrosità che si esprimono non appena intervenga una scintilla eccitatrice.

Questo magnifico prodotto si può e si deve valorizzare, ma in che modo?

Il problema va affrontato con ferma decisione e con intelligente passione nei suoi svariati aspetti, dal lato agrario come da quello economico, dal lato tecnico come da quello sociale. Lungi da me il pensiero di voler sviscerare a fondo il quesito anche sotto uno solo di questi aspetti. Mi limiterò a trattare, in sintesi, alcuni progressi recentemente conseguiti, chiedendo venia se la trattazione sarà un po' troppo infiorata da termini astrusi e se per alcune possibilità dovrò limitarmi a rapidi cenni.

E, per cominciare, ho intenzione di accompagnarvi alla scoperta del misterioso mondo che ritroviamo nei frutti agrumari, affinchè possiate meglio comprendere a quali pericoli è esposto e quanto degno sia della nostra vigile attenzione.

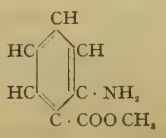
Gli agrumi producono un frutto tutto particolare, un esperidio, dove la parte commestibile è data da particolari emergenze che spuntano nello interno delle logge ovariche, dopo la fecondazione.

Anche in questo esperidio, come negli altri frutti, si distinguono un epicarpo, un mesocarpo, un endocarpo; però la distinzione è puramente teorica. In realtà, la natura sembra avere qui sovvertito quelle leggi dell'ordinaria architettura secondo cui ad ogni organo spetta una

funzione stabilita e nettamente distinta dalle altre. Sembra quasi che l'esuberante attività di questa calda terra meridionale abbia voluto concentrare in poco spazio una dovizia di principi diversi facendone oggetto di una originale per quanto disordinata distribuzione. Così nei tessuti epidermici sottili e ghiandolari degli agrumi possiamo riconoscere tanto una funzione protettiva e di difesa quanto una ansiosa e quasi umana aspirazione ad eccellere, a mettersi in mostra, ad attirare l'attenzione. E le diverse specie e varietà vanno a gara in questo concorso di bellezza e così, fermandoci alle arance, vediamo ad es. che le varietà sanguigne spesso la spuntano su quelle bionde, tanto che le prime trovano un più facile collocamento su molti mercati esteri di consumo. Alcuni sospettano anzi che la vivacità di tinta delle nostre arance sanguigne sia l'effetto di interventi artificiali, ma il chimico ed il fisiologo vi diranno che solo agli interventi naturali dell'ossigeno, della luce, del calore e talora di traumi e di attacchi parassitari si deve la formazione delle lunghe catene alchiliche dei carotinoidi e la condensazione, secondo linee e punti ben definiti, dei nuclei benzenici nei flavoni e negli antociani. Questi pigmenti gialli e rossi variamente raggruppati nella stessa epidermide determinano, grazie al loro forte potere colorante, quelle varietà di colorazioni vivaci ed attraenti che conferiscono agli agrumi uno dei pregi più ambiti. E voi m'insegnate ancora che questa pigmentazione si gradua secondo le varietà, che è più intensa se l'invaiatura si fa con giornate fredde e se la concimazione abbonda e che negli aranceti esposti a tramontana e, sulla stessa pianta, nei frutti esposti al nord, essa compare in anticipo.

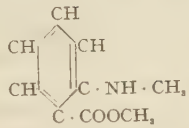
Ma ancora a proposito dei tessuti epidermici un altro rilievo c'impone l'olfatto: esso ci svela la presenza di un'altra piccola maraviglia, di un altro complesso edificio chimico, quello degli olii essenziali che sono contenuti in piccole ghiandole oleifere solo visibili con l'ausilio del microscopio e che filtrando all'esterno creano un inconfondibile poema di fragranza. Ed anche sotto questo aspetto è giocoforza riconoscere che la natura si è sbizzarrita ad immagazzinare in queste essenze una congerie di prodotti per la maggior parte volatili: idrocarburi della serie grassa (terpeni) e aromatica (limonene, ecc.), alcoli liberi e combinati (linalolo, citronellolo, ecc.), aldeidi (citrale, citronellale, ecc.), chetoni, ecc.

La frazione non volatile presenta una caratteristica fluorescenza azzurro–violacea in luce ultravioletta anche a fortissime diluizioni e in essa ritroviamo dei principi come: l'antranilato di metile (nell'arancia dolce)



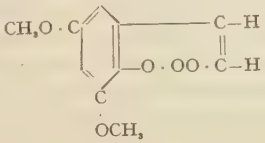
(visibile ancora alla diluizione di 60 gamma $^{0}/_{00}$)

il metilantranilato di metile (nel mandarino)

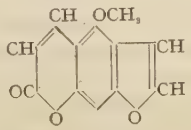


(visibile ancora alla diluizione di 3 gamma $^{0}/_{00}$)

il citroptene (nel limone) o 4–6 dimetilossicumarina



il bergaptene (nel bergamotto) derivato dal cumarone



principi che secondo alcuni (Tyndall e G. Testi Dragone) sono degli ottimi mezzi di difesa contro la frazione nociva delle radiazioni solari.

Sotto lo strato epidermico e prima di giungere alla porzione commestibile ritroviamo uno strato di cellule che assolve ad una funzione protettiva, ma anche questa non concepita secondo il criterio classico. Non si tratta, infatti, di cellule appiattite pressocchè inerti, ridotte alla più semplice espressione anatomica, bensì di cellule vive, esuberanti, ricche di amido e di pectine, che formano un tessuto di notevole spessore, spugnoso nelle arance e nei mandarini, compatto nei limoni. Queste pectine (che nelle bucce di arancia raggiungono il 25 %, in quelle di limone il 30–35 %, in quelle di bergamotto il 21 % circa) riconfermano, come se già non bastasse, la prepotente facoltà sintetizzante di questi fattori fisiologici che dalla condensazione degli zuccheri semplici traggono quell'acido tetra–galatturonico che è l'ossatura della molecola pectica. Grazie a queste pectine e alla loro natura colloidale, il frutto acquista in morbidezza e sofficità e conserva più a lungo il suo turgore e la sua splendente freschezza.

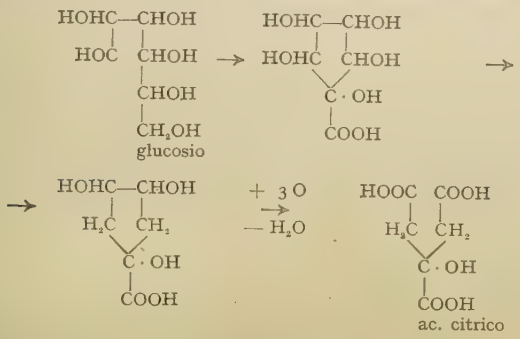
E siamo così giunti alla parte commestibile del frutto, così fragrante e succosa, benessere del palato, rigeneratore sovrano delle energie affievolite che ripete lo stesso carattere di complessità altrove individuato. Qui non si tratta, come negli altri frutti, di una massa omogenea più o meno acquosa e zuccherina, ma al contrario questa polpa è suddivisa in compartimenti,

dove stanno tante piccole papille di origine epidermica di dimensioni dapprima capillari, che via via s'inturgidiscono e divengono alla fine delle vesciche turgide, saldamente giustapposte, che contengono il succo del frutto maturo.

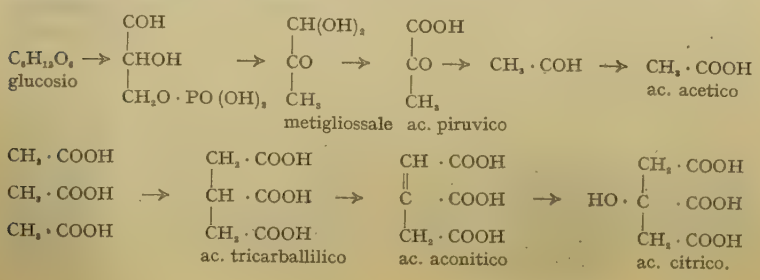
E in questo succo l'analisi rivela anzitutto la presenza di diversi zuccheri quali il glucosio, il fruttosio, il saccarosio che, più abbondanti nella arancia (3–7 %), più scarsi nel mandarino, nel limone, nel bergamotto (1–2 %), assolvono ciascuno specifiche funzioni fisiologiche e la cui contemporanea presenza sta a dimostrare una non comune attività enzimatica nel rigenerare la molecola del saccarosio mano a mano che questa s'inverte per l'acidità dei succhi.

L'altro costituente dei succhi, che in misura più o meno abbondante (6–8 % nel limone, 1 % nelle arance, 0,5 % nei mandarini) accompagna gli zuccheri, e cioè l'acido citrico conserva ancora in gran parte segreta la sua origine.

Non è questa la sede più opportuna per un esame critico del problema, tuttavia credo utile accennare alle due teorie che tengono oggi il campo. La prima riferisce l'acido citrico ad una condensazione alcolica di molecole di glucosio con la successiva apertura del ciclo per ossidazione:



La seconda ammette una serie di reazioni per un certo tratto comuni alla fermentazione alcoolica fino alla fase dell'acetaldeide. Da questa si passerebbe prima all'acido acetico e poi per condensazione all'acido tricarballilico, all'acido aconitico e all'acido citrico:



L'acido aconitico e l'acetico sono stati realmente riscontrati nei succhi degli agrumi.

Alla genesi di tutti questi principi coopera una miriade di ultramicroscopici artefici, che alcuni chiamano bio–catalizzatori, altri enzimi o fermenti solubili (e fra questi distinguiamo perossidasi, ossidasi, catalasi) attraverso un meccanismo ancora ignoto, nonostante gli studi che da decenni si proseguono per penetrarne i segreti. La loro costituzione rivela un gruppo attivo ed un supporto generalmente di natura proteica, che è il punto più labile del sistema. Il loro comportamento dimostra un'elevata sensibilità alle alte temperature, alla reazione del mezzo in cui agiscono e alla presenza di certi elementi, quali il ferro, il rame, il manganese, alcuni eteri, l'acetaldeide e l'etilene che ne eccitano l'attività.

Questa particolare architettura del frutto, che in breve ho tentato d'illustrarvi, presenta numerosi punti deboli che fanno di questi esperidi un prodotto particolarmente alterabile. La stessa dovizia di principi enzimatici, che ha condotto ad una così mirabile costruzione, entra subito in funzione su nuove direttrici di marcia, non appena il frutto abbia raggiunto la pienezza della sua maturità. Col risultato che nei casi più lievi viene messa a repentaglio solo l'integrità superficiale del prodotto; nei casi più gravi si fa breccia sull'intima costituzione del frutto stesso.

Su questi processi alterativi che si riferiscono essenzialmente ad ossidazioni, ad idrolisi, a disidratazioni, a fermentazioni credo opportuno scendere a più minuti dettagli.

Fra le alterazioni fisiologiche che deprezzano sensibilmente il prodotto per l'immediatezza della loro percezione sono certe forme di dermatosi o maculature superficiali, di cui si sono distinti abbastanza nettamente due tipi:

a) la f e t o l a , già descritta dal C a r r a n t e , provocata da insetti, acari, funghi e batteri;

b) l'o l e o c e l l o s i (erosioni ocracee), particolarmente studiata da S c u r t i , P a v a r i n o (1) e dallo scrivente (2), la cui causa va ricercata sia in contusioni conseguenti a maltrattamenti, sia in sfavorevoli condizioni di ambiente (sbalzi di temperatura, deficiente aerazione, ecc.).

Talune di queste cause avverse agiscono negli agrumeti, altre intervengono durante l'operazione di raccolta, di pulitura, disinfezione ed imballaggio ed infine durante il trasporto o la conservazione prima del consumo. Questi maltrattamenti involontari causano delle lesioni più o meno profonde seguìte dalla fuoruscita di minime quantità di olii essenziali, come lo dimostra l'esame coi raggi ultravioletti.

Così mentre i l i m o n i i n t e g r i sotto questa luce presentano su uno sfondo giallo–chiaro una fluorescenza verde–bluastra diffusa, non appena si manifesti un principio di alterazione dell'epidermide compaiono delle zone violacee che col diffondersi dell'essenza si allargano sempre più e divengono in breve il ricettacolo delle muffe più svariate. Le a r a n c e i n t e g r e appaiono intensamente colorate in rosso–bruno quasi vellutato,

mentre quelle ammaccate rivelano delle chiazze irregolari giallo–aranciate, con una fluorescenza a riflessi violacei. Il mandarino integro presenta una colorazione fondamentale che ricorda da vicino quella delle arance sanguigne, mentre le lacerazioni dell'epidermide appaiono viola chiare e le ammaccature profonde si presentano verdognole con un alone violaceo. Infine i pompelmi e i bergamotti sani presentano delle caratteristiche analoghe a quelle dei limoni, mentre se lesionati rivelano delle chiazze violacee.

Questa fuoruscita di essenza non sarebbe per sè dannosa, anzi potrebbe costituire un pregio, se non aprisse la via a serie complicazioni. Infatti, ben presto l'essenza non riuscendo a volatilizzarsi corrode la cuticola, ne disorganizza l'impalcatura, ne provoca delle disidratazioni che determinano infossamenti, coartazioni e degenerazioni del citoplasma (J. Scurti) (3). E si tratta di un processo estremamente rapido: basti pensare che la centesima parte di un cc. di essenza di limone è sufficiente per macchiare in pochi minuti l'epidermide del frutto. All'esame microscopico le zone colpite dimostrano la necrosi delle cellule, il contenuto delle quali, ricco di amido, assume una colorazione giallo–brunastra che diventa più scura in corrispondenza degli stomi per effetto degli scambi gassosi che avvengono negli organi respiratori e traspiratori della buccia.

In un secondo tempo, attraverso queste lesioni, penetrano e si fissano dei microrganismi che aggravano i fenomeni degenerativi.

Non meno imponenti anche se meno appariscenti sono le alterazioni enzimatiche interne che portano all'appassimento del frutto ed alla distruzione ossidativa e fermentativa degli zuccheri e delle pectine con la complicità della luce, della temperatura e dell'umidità dell'aria.

Se la ventilazione è sufficiente, prevalgono la traspirazione e l'ossidazione degli zuccheri sino ad anidride carbonica e ad acqua. In questi casi la perdita di peso che ne deriva dipende sostanzialmente dal grado di maturazione e dalla temperatura di conservazione, come hanno chiaramente dimostrato delle prove effettuate anni fa presso la Stazione chimico–agraria sperimentale di Torino.

Delle arance bionde, conservate per un mese in gabbiette (27–28 frutti), subirono un calo del 16 % per il prodotto raccolto in gennaio, del 13 % per quello raccolto in febbraio, del 5 % per quello raccolto in marzo, costante restando a 20° C. la temperatura di conservazione. Meno sensibili risultarono le differenze quando i frutti erano imballati in cassette chiuse (40 frutti) o in fusti (70 frutti). Altre osservazioni dimostrarono che, nello stesso periodo, l'acidità e gli zuccheri, specie quelli riduttori, diminuivano del 30–40 %, mentre compariva una certa quantità di alcool, circa l'1 %, e si raddoppiava il tenore in azoto ammoniacale. Altre prove di Tzerevitinoff e Tcherkachine, dirette a definire l'azione della temperatura, stabilirono che in un mese le arance del Caucaso tenute a 7 C°. subivano una perdita di zuccheri quadrupla di quella a 0° C. e che lo stesso valore a 15° C. si raddoppiava.

Se la ventilazione è deficiente, e peggio se nulla, prevale il fenomeno della fermentazione zuccherina accompagnata da processi di autocatalisi con la comparsa di quantità notevoli di anidride carbonica, alcoli, aldeidi ed acidi volatili. È, in sostanza, il fenomeno caratteristico di ogni ammezzimento naturale, fenomeno che può comparire in notevole anticipo se i frutti sono costretti a vivere in ambiente confinato. Questo riscontrarono da tempo Couverchel, Frémy, Lechartier e Bellamy (4), e più recentemente Scurti e Zavanaju (5), che fissarono l'intensità e le modalità esatte del fenomeno. Le cifre che riporto, altamente significative, stanno a dimostrare che già nel breve spazio di 20 giorni si quadruplica l'acidità, mentre diminuisce sensibilmente la percentuale degli zuccheri non riduttori, specie alla temperatura ambiente.

Temperatura	Kg.	Vol. CO_2 svolto dopo	Acidità (in ac. citrico)		Zuccheri riduttori		Zuccheri non riduttori	
			prima	dopo	prima	dopo	prima	dopo
			%	%	%	%	%	%
Arance in atmosfera confinata								
20° C.	6,230	20 g.: cc. 15.000	0,32	1,27	4,58	4,94	3,60	3,13
1–2° C.	6,655	30 g.: cc. 600	0,32	1,27	4,58	5,60	36,0	3,12
Arance in ambiente di CO_2								
20° C.	6,450	20 g.: cc. 5.000	0,32	1,23	4,58	5,24	3,60	3,27
1–2° C.	6,635	30 g.: cc. 1.500	0,32	1,32	4,58	5,50	3,60	3,67

Fenomeni simili sono tutt'altro che inconsueti durante il trasporto delle arance nei vagoni ferroviari.

Non credo che siano necessarie altre delucidazioni per comprendere i pericoli cui la produzione agrumaria va incontro dal momento in cui si raccoglie sino al momento in cui si consuma.

Ogni anno forti quantitativi di agrumi vengono perduti per degenerazioni fisiologiche e per marcescenza, perdite che possono ridursi a cifre modeste purchè si proceda all'affinamento della produzione, al miglioramento delle condizioni di trasporto e all'applicazione del freddo artificiale per rallentare i fenomeni degenerativi.

Affinamento della produzione

Da tempo l'ICE ha emanato un complesso di norme tecniche per presentare sui mercati esteri una produzione agrumaria che possa veramente competere con la concorrenza.

Si è cominciato con lo stabilire la qualità dei limoni e delle arance più meritevoli di esportazione dalle diverse regioni: Sicilia, Calabria, Campania, Lazio e Puglie. Si è fissato come massimo all'1 % il numero tollerato

di frutti « scaldati » o colpiti da marciume, mentre sono stati esclusi del tutto dall'esportazione i frutti immaturi, gli avvizziti, quelli colpiti dal gelo, da fumaggine, da cocciniglie, da macchie di ruggine, ecc. Si sono stabilite le categorie di selezione specificando a quali caratteri debbono obbedire le produzioni di « prima », di « seconda », di « terza » e la produzione « mercantile ». Infine sono state fissate le calibrazioni ed i pesi minimi dei frutti, le pezzature, i tipi, le dimensioni delle casse e cassette d'imballaggio, finestrate e non finestrate.

Senza dubbio queste disposizioni hanno, nei tempi passati, non poco contribuito al miglioramento del nostro commercio di esportazione, ma ora bisognerà proseguire su questa via, e anzi cominciare a controllare e selezionare il prodotto direttamente nel frutteto quando ancora sta formandosi sulla pianta. Non è di mia competenza parlarvi di varietà, di pratiche colturali, di difesa contro le malattie, tutti aspetti di un unico problema: il miglioramento della produzione.

Piuttosto mi soffermerò su particolari carenze che molti terreni agrari presentano nei riguardi di certi elementi chimici e che si rivelano con la comparsa di malattie caratteristiche sui frutteti e anche su colture erbacee. Tipiche malattie di carenza si sono già notate specialmente in certe regioni dell'America e dell'Europa settentrionale e da noi stanno già affacciandosi timidamente qua e là.

L'analisi spettrografica è già stata, e più ancora lo sarà in avvenire, di grande aiuto per stabilire le esatte relazioni fra certe malattie fisiologiche e la mancanza di determinati elementi di fertilità.

Per restare nel campo degli agrumi mi limiterò ad accennare che la malattia della stoppositá dei limoni del Canadà è dovuta a carenza di boro, mentre la foliocellosi degli agrumi in genere è dovuta a carenza di zinco. Quest'ultima malattia si manifesta con una speciale screziatura delle foglie, mentre le nervature rimangono verdi, donde l'aspetto marmorato delle foglie stesse. Contemporaneamente si rallenta e talora si arresta del tutto l'accrescimento della pianta.

Anche in Italia, come da tempo si è già fatto in America, in Russia, in Germania, in Francia, in Olanda, si dovrà presto prendere in esame la necessità di arricchire il terreno di elementi micronutritivi quali il boro, lo zinco, il manganese, il rame, il molibdeno, il cobalto, ecc., tenendo presente che questi elementi, indispensabili in dosi minime, divengono nocivi non appena si sorpassino determinati limiti. Un'altra pratica che può efficacemente coadiuvare l'affinamento della qualità consiste nella maturazione artificiale con la quale si può ottenere una colorazione più uniforme degli agrumi in genere, dei limoni in specie.

Nel lontano 1912, Vinson, Sievers e True (6) facevano per primi l'interessante osservazione che i prodotti gassosi della combustione degli olii minerali sono capaci di sviluppare nelle arance e nei limoni verdi il colore dei frutti maturi. Più tardi ad opera di E. M. Harvey e di Denny (7) si riuscì a dimostrare che fra i prodotti del gas illuminante,

si trovava l'etilene e che questo provocava nei frutti in via di maturazione l'assorbimento di una maggior quantità di ossigeno e l'emissione di una maggior quantità di anidride carbonica.

Continuando queste ricerche, Chace e Denny (8) nel 1924 dimostrarono che l'etilene a 1 : 5000 è capace di accelerare la maturazione dei limoni intensificando l'evoluzione della clorofilla. risultati confermati da Ivanoff, Prokoscev, Gabunya (9) e Zavanaju (10) operando su mandarini e arance.

Ancora controversa è la questione se il trattamento in parola pregiudichi i poteri di resistenza dei frutti e se la maturazione indotta sia più apparente che reale (Casella) (11).

Comunque in California le arance incompletamente mature, raccolte contemporaneamente a quelle mature, sono trattate in camere di colorazione, mantenute fra 18 e 21° C. con una umidità relativa di 88–90 % per 30–72 ore in una atmosfera costituita da una parte di etilene per 50.000–200.000 p. di aria, curando che l'anidride carbonica non superi l'1 %.

Fra le pratiche che contribuiscono a raggiungere un maggior grado di affinamento della produzione possiamo infine classificare il trattamento sterilizzante degli agrumi a mezzo dei raggi ultravioletti già indicati come preziosi segnalatori di ammaccature e lesioni. Questi raggi esercitano sugli agrumi un potere abiotico tanto maggiore quanto minore è la lunghezza d'onda, e il nostro Petri ha in proposito fissato a 2300–2500 Å le lunghezze d'onda dei raggi ultravioletti dotati di potere abiotico sulle spore della *Microsphaera quercina* ed Euler lo ha confermato per il *Penicillium glaucum* ed il *Rhizopus chinensis*. Altre spore fungine sensibili al trattamento sono quelle di *Rhiz. nigricans*, *Pen. digitatum*, *Pen. expansum*, *Phomopsis citri*, *Fusarium echinosporium*: il trattamento secondo i casi può durare da 15″ e 15′ (in genere 2–4′).

Partendo da queste concezioni generiche e volendo giungere a delle norme specifiche Fulton e Coblentz studiarono l'applicazione dei raggi ultravioletti sino a 4 minuti direttamente sulle arance artificialmente infettate con una sospensione acquosa di spore di *Pen. digitatum* e pur notando che la rugosità dell'epidermide costituisce un ostacolo alla penetrazione dei raggi poterono osservare una sterilizzazione assai spinta dal prodotto. Non c'è che da augurarsi che l'impiego delle radiazioni a breve lunghezza d'onda possa presto trasportarsi dal laboratorio nel vasto campo delle pratiche realizzazioni.

Applicazioni del freddo artificiale

Lo sviluppo dell'industria frigorifera è storia di oggi: l'abbiamo vista svolgersi sotto i nostri occhi fino a raggiungere un grado dei più cospicui tra le molteplici e brillanti conquiste della scienza moderna.

Se pensiamo che con la produzione del freddo artificiale, si possono creare a volontà in qualunque parte della terra e in qualunque stagione

le basse e le bassissime temperature e che siffatte condizioni d'ambiente possono prolungarsi indefinitivamente, non c'è da meravigliarsi delle enormi possibilità di questa nuova industria, nè del fatto che, trasportatasi dal campo della conservazione dei prodotti animali a quello dei prodotti ortofrutticoli, abbia già rivoluzionato il commercio della frutta in alcuni paesi, come ad es. l'Australia. L'Italia, purtroppo, è giunta quasi ultima fra le consorelle europee nella magnifica gara dell'industria del freddo, mentre per la sua configurazione geografica e per le esigenze sempre crescenti dei suoi commerci interni ed esteri, sarebbe stato lecito attendersi una organizzazione ed uno sviluppo ben diversi specie nelle zone intensamente ortofrutticole.

Ma quello che sinora non si è fatto si può sempre fare specie ora che sotto il pungolo del bisogno si sono riformate le coscienze ed affilate le volontà. E forse si potrà fare anche meglio avvalendosi dei progressi raggiunti nel frattempo dalla scienza e dalla tecnica.

Oggi l'applicazione del freddo artificiale alla nostra produzione agrumaria si delinea in tre direzioni: prerefrigerazione (in misura dominante), refrigerazione e congelamento (in misura complementare).

La prerefrigerazione è da tempo introdotta in America per le arance spedite giornalmente dalla California. Quivi i frutti s'imballano in casse standard di 32–35 kg. di arance e in ogni vagone s'immagazzinano 462 casse per circa 155 ql. di frutta. La prerefrigerazione si opera con aria alla temperatura di 0,5° C. e umidità 85–90 % sino a raggiungere nella frutta, in 3 giorni, la temperatura di 2,2° C. Il grado di ventilazione raggiunge i 5.100 m^3/h. Si ha cura che l'anidride carbonica non superi il 0,2 % e a tal fine si purifica l'aria per lavaggio e s'immette aria fresca nella dose di 18 m^3/h.

Anche da noi questa pratica dovrebbe ulteriormente affermarsi, perchè, anche astraendo dalla conservazione per lunghi periodi, è pur sempre necessario accentrare le arance in magazzini di cernita e imballaggio e procedere poi alla loro spedizione. Queste operazioni richiedono un tempo più o meno lungo a seconda della distanza dei centri di produzione a quelli di consumo ed a seconda della facilità di assorbimento sui mercati e durante questo tempo la merce non refrigerata rapidamente ammezzisce e ammuffisce.

Naturalmente la prerefrigerazione deve essere applicata il più presto possibile dopo la raccolta e va corredata da tutte le precauzioni necessarie, altrimenti si rischia di compiere delle operazioni antieconomiche ed inefficaci.

La refrigerazione fu sperimentata tempo fa in Italia sulle arance e sui mandarini allo scopo di vedere sino a qual punto fosse possibile prolungarne il periodo di commerciabilità nonchè per saggiarne il grado di resistenza al freddo, sostenendo numerosi esportatori che esse, nella conservazione frigorifera, vanno facilmente soggette ad alterazioni.

Presso il frigorifero sperimentale della Stazione chimico–agraria di Torino, in collaborazione con l'Istituto Nazionale per l'Esportazione si

eseguirono alcuni anni fa delle prove di conservazione frigorifera su tre varietà di arance sanguigne: il « Sanguigno doppio », il « Sanguinello » e il « Vaccaro Moro », varietà molto ricercate sui mercati esteri per la fragranza della polpa, per la vivacità delle tinte, per la maggior resistenza ai trasporti.

Le arance in parte sterilizzate con acqua calda e in parte non sterilizzate furono imballate in casse finestrate e non finestrate e in casse californiane. La conclusione di queste prove fu che con una temperatura di 4–5° C. e una umidità dell'85–86 % si poteva prolungare di 4–5 mesi la commerciabilità delle arance, risultati che furono d'altronde confermati più tardi da esperimenti americani (12).

È necessario aggiungere che la ventilazione deve essere particolarmente attiva, almeno 1,7 m^3/h per ogni cassa immagazzinata e che è consigliabile procedere alla depurazione dell'aria allo scopo di eliminare i prodotti della respirazione, specie l'anidride carbonica e i prodotti eterei del ricambio.

Favorevole si è dimostrato l'avvolgimento dei frutti e delle casse onde diminuire la traspirazione: e specie un avvolgimento semipermeabile per le casse e un avvolgimento dei frutti con carta seta o fogli sottili d'alluminio.

Deleterio è apparso invece il trattamento sterilizzante, almeno nelle condizioni in cui fu effettuato (macchine a saltellamento): infatti mentre per i frutti non sterilizzati dopo 15 giorni si ebbe il 5 % di frutti macchiati e dopo 30 giorni il 12 %, tali cifre raggiunsero per i frutti sterilizzati rispettivamente il 30 % ed il 50 %.

La refrigerazione dei mandarini fu sperimentata da Tommasi (13) presso la Stazione chimico–agraria di Roma. Una conservazione per due mesi si ottenne alla temperatura di 6° C. con una umidità di circa l'80 %. Dopo tale lasso di tempo la conservazione non apparve più economicamente conveniente e tecnicamente indicata, perchè i cali superarono l'8–10 %, mentre contemporaneamente si notavano sensibili alterazioni di sapore, e perdita del profumo, che preludevano al comparire dei sintomi, visibili esternamente, della caratteristica malattia dell'oleocellosi. I mandarini da preferirsi sono quelli non del tutto maturi, a buccia sottile ma resistente, molto porosa e non troppo distaccata dagli spicchi.

Le cause nemiche sono state identificate nello sfavorevole andamento stagionale, nella inadatta epoca di raccolta, nelle eccessive manipolazioni, nella distanza fra la raccolta e l'immissione nelle celle.

Ed eccoci al congelamento. Come si è visto, adottando determinate condizioni di temperatura, di umidità e aerazione gli agrumi possono conservare anche per diversi mesi le loro caratteristiche di edulità e di fragranza. Però, siccome anche negli ambienti refrigerati i frutti continuano a vivere e a maturare, sia pure con ritmo rallentato, ne consegue che il periodo massimo di conservazione frigorifera non può sorpassare determinati limiti, imposti dal sopraggiungere della maturazione e dell'ultramaturazione.

Se si vuole sorpassare questi limiti bisogna disporre di un'arma più efficiente che è stata trovata nello stesso campo del freddo artificiale e cioè il congelamento. Anche questa nuova applicazione del freddo ha trovato la sua massima diffusione in America dove ci si è coraggiosamente messi a congelare i prodotti più svariati, con le tecniche più originali e nel caso degli agrumi è stato riconosciuto più interessante il congelamento dei succhi.

Però se numerose sono le complicazioni che interferiscono nell'opera del freddo nella semplice conservazione frigorifera, ancora più voluminoso è il bagaglio delle precauzioni che il congelamento richiede.

Occorre stabilire e seguire scrupolosamente una vera e propria catena frigorifera, cioè una successione di operazioni concatenate che iniziano dalla campagna, e della quale nessuna può essere omessa nè trascurata senza compromettere il risultato finale.

Se oggi l'industria americana del congelamento dei prodotti orto–frutticoli può vantare al suo attivo innegabili successi si è perchè i tecnici hanno compreso che non basta possedere congegni di primo ordine e risolvere ardui problemi fisici, ma occorre saper dominare tutto quel mondo di forze vitali che concorrono alla produzione agraria, se si vogliono ottenere prodotti congelati ineccepibili. È prima di tutto è la scelta delle varietà il primo problema da risolvere.

Gli americani hanno assodato che fra le arance della California sono più adatte alla preparazione di succhi congelati le varietà « Valencia », « St. Michael » e « Mediterranean Sweet » (queste due ultime sono però poco coltivate), mentre i succhi delle arance « Navel » e « Seedling » tendono a diventare rapidamente amare dopo l'estrazione. Tra le arance della Florida sono anche adatte le varietà « Pineapple » e « Temple » (questa poco diffusa) semprechè in tutti i casi i frutti si trovino al loro giusto punto di maturazione. Poi bisogna procedere alla distruzione dei fermenti solubili e all'allontanamento dell'ossigeno che insieme ai fermenti concorre al peggioramento della qualità.

È noto che i fermenti solubili così sensibili alle elevate temperature hanno invece una scarsa sensibilità verso le basse e bassissime temperature alle quali conservano una certa attività.

Per di più l'azione degli enzimi fuori delle cellule viventi e in condizioni anormali di temperatura si svolge in modo ben diverso da quello ordinario. Ad esempio, mentre nelle cellule l'idrolisi delle proteine conduce a polipeptidi e ad amminoacidi, quando tale idrolisi avvenga in condizioni anormali si formano ammine di sapore e di odore sgradito. Inoltre si verificano fenomeni d'idrolisi enzimatica di eteri composti (accompagnati da affievolimento dell'aroma) e di glucosidi come l'esperidina particolarmente abbondante nel frutto acerbo (con sviluppo di sapori amari). Ancora, gli enzimi ossidanti intervengono nella distruzione rapida della vitamina C e nella ossidazione di pigmenti e di tannini (accompagnata da fenomeni di imbrunimento). Queste alterazioni possono in qualche caso derivare anche da

attività di microrganismi, alcuni dei quali sono dotati di una meravigliosa facoltà di adattamento alle basse temperature.

Nell'industria del congelamento bisogna quindi proteggere i prodotti ortofrutticoli da siffatte attività, ciò che normalmente si pratica ricorrendo alla scottatura, allo zuccheraggio e alla conservazione nel vuoto e nei gas inerti.

Joslyn e Marsh (14) tenendo presente quanto sopra hanno proposto una particolare tecnica nel congelamento dei succhi d'arancie e di limoni.

Eccola nelle sue linee schematiche:

1) Lavaggio dei frutti con soluzioni antisettiche concentrate per ridurre i microrganismi e diminuire il pericolo di spiacevoli cambiamenti di sapore e di aroma durante la conservazione;

2) Selezione per grossezza;

3) Divisione dei frutti in metà con coltelli circolari;

4) Estrazione del succo (alcuni la fanno precedere dalla refrigerazione e dalla sbucciatura). Gli estrattori devono evitare che nel succo s'incorpori una grande quantità di aria di non facile eliminazione che ne danneggia il colore e il contenuto vitaminico: sono all'uopo impiegati tipi diversi di estrattori, il « Pipkin », il « Brown », il « Rotary » e « Polk » (quest'ultimo asporta anche molto olio essenziale se il frutto non è sbucciato e allora occorre ancora deolearlo in deoleatori a vuoto all'ebollizione). Da 1 tonn. di frutta si ricavano sino a 450 litri di succo.

5) Setacciamento per separare le parti solide;

6) Deareazione in camere ad alto vuoto dove il succo giunge in sottile strato o omogeneizzato sotto forma di finissima pioggia. L'omogeneizzazione viene compiuta spingendo il succo ad una pressione variabile da 300–400 atmosfere fra le teste di due alberi coassiali del diametro di 2–3 cm. a superfici rispettivamente concava–convessa, fortemente spinti l'uno contro l'altro ed uno dei quali rotante.

7) Riempimento e chiusura automatica dei recipienti che possono essere bottiglie o scatole di cartone paraffinato (come sono impiegate dalla National Juice Corporation della Florida) o scatole metalliche rivestite di speciali smalti (come sono impiegate negli stabilimenti della California).

L'operazione deve essere effettuata in completa assenza di aria, che viene scacciata o col vapore o con gas inerti.

È utile richiamare l'attenzione su un particolare interessante.

Tutti questi imballaggi devono essere a chiusura ermetica perchè nel congelamento e più durante la conservazione si separa una piccola quantità di un liquido vischioso contenente 8 % di acido e 64 % carboidrati detto liquido metacriotico. Alcuni anzi consigliano un trattamento preventivo con enzimi pectolitici per distruggere le pectine ed impedire il loro passaggio, durante il congelamento, a gelatina irreversibile che renderebbe poi insolubile il liquido metacriotico durante lo scongelamento.

8) Pastorizzazione a 90° C. (secondo alcuni meglio a 115° C.) in pastorizzatori mobili in modo che il riscaldamento sia rapido.

Sono adatte all'uopo delle macchine sterilizzatrici a scatola rotante dove si cerca di conseguire il duplice scopo di rendere continua la lavorazione e di ottenere la sterilizzazione in un tempo più breve e con temperature più basse. Una scatola contenente 1 kg. di prodotto può essere sterilizzata a 95–96° C. in 10–20' con sterilizzatrici a scatola rotante a 25–35 giri/1'.

La pastorizzazione deve essere seguita da un raffreddamento rapido a pioggia o meglio ad immersione con dispositivi simili alle sterilizzatrici a scatola rotante.

9) Congelamento, che si opera con diversi sistemi: alcuni impiegano dei congelatori tubulari in movimento (come la Sunset Packins Corporation di Pasadena, California), altri congelano in salamoja di $CaCl_2$ a —40° C. (come la Bordon Co. di Tampa, Florida).

Alcuni preferiscono il congelamento rapido in circa 30–40′ a —25° C. perchè si produrrebbe meno liquido metacriotico, e dei cristalli più fini.

Altri preferiscono il congelamento lento a —15 ÷ 18° C. per cui occorrono 6h per scatole di 5 kg. In realtà i fini cristalli di ghiaccio che si originano col congelamento rapido aumentano di volume in posto durante la conservazione frigorifera specie se la temperatura non si mantiene assolutamente costante.

Resta però ancora da chiarire se il congelamento rapido può essere giustificato dalla necessità di mantenere inalterata la dotazione vitaminica.

Il Pankofer (15) consiglia un congelamento in tre tempi:

1° tempo: prerefrigerazione a 1–3° C.

2° tempo: congelamento a —3 ÷ —5° C. per 15′

3° tempo: congelamento a —20 ÷ —25° C. fino a completo indurimento.

10) Conservazione dei prodotti congelati. Se durante la conservazione si mantiene una temperatura minore di —10° C. anche dopo 6 mesi–1 anno si notano solo minimi cambiamenti di colore e di sapore ed anche la provitamina A e la vitamina C si mantengono pressocchè inalterate.

Una difficoltà che per molto tempo ha lasciati perplessi i consumatori nei riguardi di questi prodotti congelati risiedeva nella tecnica dello scongelamento e nel timore che durante tale fase si verificassero alterazioni nel prodotto. Attualmente fra le proprie pareti domestiche il consumatore dispone almeno di tre metodi di scongelamento che danno il massimo affidamento di perfetta riuscita.

Il sistema più semplice è quello di riporre i prodotti congelati in armadio frigorifero a 5–10° C. sino a scongelamento. Sono richieste 8–12 ore.

Oppure più rapidamente si può ottenere lo scongelamento ponendo le scatole davanti ad un ventilatore e rimuovendole ogni tanto o anche scongelando in acqua fredda corrente.

Infine se si tratta di succo congelato in grandi scatole ad es. di 10 kg. si procede ad uno scongelamento parziale in modo da poter estrarre il blocco dalle scatole, poi questo viene frazionato in blocchetti più piccoli che s'imballano di nuovo e si conservano in armadi frigoriferi.

E per finire accennerò ancora che sempre in America si prepara un succo d'arance congelando i 3/4 dell'acqua che contiene, in modo da formare una finissima neve che viene separata per centrifugazione. Il succo liquido che si separa contiene circa il 48 % di sostanze acide e zuccherine e si conserva a —18° C.

Anche a questa temperatura il succo non congela, ma rimane vischioso in modo da potersi facilmente rimuovere col cucchiaio.

Al momento del consumo basta diluirlo con 3 p. di acqua per avere un succo di arance praticamente uguale al succo primitivo.

E con questo termino il mio dire. Mi lusingo di aver dimostrato, seppure i vari argomenti siano stati solo sfiorati, come anche nel settore

agrumario alcune delle conquiste della scienza e della tecnica, se saggiamente applicate possono risolvere importanti problemi di produzione e di commercio.

È stata la constatazione diretta dell'efficienza di molti di questi ritrovati che ha ingenerato in me il convincimento che per valorizzare la nostra frutticoltura in genere occorra battere vie nuove, cimentare nuove possibilità.

È tempo ormai che gli agricoltori si rendano conto della necessità di seguire i progressi della biologia e dell'agrotecnia e che gli industriali dal canto loro vengano incontro ai bisogni della campagna fornendo congegni sempre più perfetti per la lavorazione delle terre e per la conservazione dei prodotti ortofrutticoli: solo stringendo sempre più i legami fra le due massime attività nazionali, solo attuando in pieno una siffatta collaborazione potrà rinascere nel Paese una sincera concordia ed una duratura prosperità.

RIASSUNTO

L'A. descrive la morfologia e le caratteristiche chimiche dei frutti delle Esperidee, mettendo in rilievo i fenomeni alterativi che avvengono dopo il distacco dalla pianta. Espone alcuni dei criteri da seguire per il miglioramento generale della produzione agrumaria alla luce dei moderni progressi della biologia e dell'agrotecnia soffermandosi infine in modo particolare sui vantaggi dell'applicazione del freddo artificiale nelle tre forme della prerefrigerazione, della refrigerazione e del congelamento, allo scopo di meglio valorizzare sui mercati interni ed esteri i prodotti della nostra agrumicoltura.

SUMMARY

MODERN SCIENTIFIC AND TECHNICAL PROGRESS IN RAISING THE VALUE OF OUR CITRUS PRODUCTS

by Ettore Bottini

The author describes the morphology and the chemical characters of citrus fruits, bringing into evidence the alterative phenomena which occur after the separation of the fruit from the tree. He suggests some criteria to be followed for the general improvement of the citrus production, based on the modern progress of biology and agro-technology, particularly dwelling on the advantages of the application of artificial cold in the three forms of pre-refrigeration, refrigeration and freezing, in order to raise the value of the products of our citrus culture both on the national and on foreign markets.

BIBLIOGRAFIA

(1) SCURTI e PAVARINO. *Annuario della R. Staz. chimico-agraria di Torino*, 1932-34, vol. XII, A, p. 199.

(2) BOTTINI, E. *Annuario della R. Staz. chimico-agraria di Torino*, 1932-34, vol. XII, A, p. 253.

(3) SCURTI, J. *Annuario dell'Istituto di sperimentazione per la Chimica agraria di Torino*, 1946-48, vol. XVI, p. 307.

(4) Cfr.: *Annuario della R. Staz. chimico-agraria di Torino*, 1929-31, vol. XI, p. 334.

(5) SCURTI e ZAVANAJU. *Annuario della R. Staz. chimico-agraria di Torino*, 1929-31, vol. XI, p. 333.

(6) Cfr.: *Annuario della R. Staz. chimico-agraria di Torino*, 1935-1937, vol. XIII, A, p. 83.

(7) L. c.

(8) L. c.

(9) L. c.

(10) ZAVANAJU, A. *Annuario della R. Staz. chimico-agraria di Torino*, 1935-37, vol. XIII, A, p. 83.

(11) CASELLA. *R. Stazione sperimentale di Agrumicoltura di Acireale*, 1933, Boll. n. 2.

(12) Cfr.: *Bull. Inst. Int. du Froid*, 1945-46, p. 111; 1947, p. 76-192; 1948, p. 67.

(13) TOMMASI, G. *Annuario della R. Stazione chimico-agraria di Roma*, Pubblicaz. n. 317.

(14) JOSLIN and MARSH. *Florida Agr. Exp. Sta., Bull. 135*, 1917. Cfr. anche: SCURTI, F. *Annuario dell'Istituto di sperimentazione per la Chimica agraria di Torino*, 1941-45, vol. XV, A, p. 137; BOTTINI, *Ibid.*, p. 215; TRESSLER and EVERS. The freezing preservation of foods. New York, 1947.

(15) PANKOFER. *Zeit. für Eis - u. Kälte - Industrie*, 1940, XLVII, Heft II.

Ricevuto il 18 marzo 1950.

PREPOSTO ALLA PUBBLICAZIONE: GIULIO TRINCHIERI

ROMA - ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO - 1950
Finito di stampare il 31 ottobre 1950

Gli *Annali della Sperimentazione Agraria* (nuova serie) sono in vendita presso la
LIBRERIA DELLO STATO
Piazza Giuseppe Verdi, ROMA
Prezzo di ogni numero: L. 400 (per l'estero il doppio)